KUERCETIN

kk
TF 07/03
Suk
5

TESIS

SINTESIS KUERSETIN ASETAT DAN KUERSETIN BENZOAT

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

DEDEK SUKARIANINGSIH

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

TESIS

SINTESIS KUERSETIN ASETAT DAN KUERSETIN BENZOAT

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

DEDEK SUKARIANINGSIH

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

SINTESIS KUERSETIN ASETAT DAN KUERSETIN BENZOAT

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

Untuk memperoleh gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Farmasi
pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga

Oleh:
DEDEK SUKARIANINGSIH
NIM: 099813062-M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002

Tesis ini telah disetujui

Tanggal 21Agustus 2002

Oleh:

Pembimbing Ketua:

Prof. Dr. G.N. Astika, Apt.
NIP:130 368 707

Pembimbing:

Dr. Hadi Siswono, Apt.
NIP: 130 531 784

Mengetahui:
Ketua Program Studi Ilmu Farmasi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Dr. Djoko Agus Purwanto, M.Si., Apt.
NIP: 131 653 457

Telah diuji pada:

Tanggal 2 September 2002

Panitia Penguji Tesis:

Ketua : Prof. Drs. Soemadi, Apt.

Anggota:

1. Prof. Dr. Bambang Soekarjo, Apt., SU.
2. Prof. Dr. G. N. Astika, Apt.
3. Dr. Hadi Siswono, Apt.
4. Dr. Widji Soeratri, DEA., Apt.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas segala rachmad dan karuniaNya, sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Dengan selesainya tesis ini saya menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak Prof. Dr. G.N. Astika, Apt. selaku pembimbing ketua yang telah dengan penuh perhatian dan kesabaran memberikan dorongan, bimbingan, saran dan nasehatnya selama penelitian dan penulisan tesis ini.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya juga saya sampaikan kepada Bapak Dr. Hadi Siswono, Apt. selaku pembimbing yang telah dengan penuh perhatian dan kesabaran dalam membimbing, memberikan saran dan dorongan hingga tesis ini dapat terselesaikan.

Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan Nasional atas bantuan Beasiswa Pendidikan Pasca Sarjana (BPPS) untuk meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Rektor Universitas Airlangga, Direktur Program Pasca Sarjana yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program Magister.

Universitas Negeri Malang, khususnya Jurusan Kimia FMIPA yang telah berkenan memberi kesempatan dan ijin pada saya untuk mengikuti program Magister.

Kepada Laboratorium Kimia UM, Laboratorium Dasar Bersama beserta seluruh stafnya atas ijin, layanan, fasilitas, dan bantuan yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian dan analisis data.

Para dosen Pengajar Program Studi Kimia Farmasi PPS Unair atas ilmu yang telah diberikan.

Drs. Effendy, M.Pd., Ph.D, Dr. Sutrisno, Dra. Nazriati, M.Si., Drs. Dermawan Afandy, M.Pd., Drs. Santoso, Drs. Wahjudi, dan semua teman di Jurusan Kimia FMIPA UM, atas segala bantuan, dorongan, dan saran-saran yang telah diberikan kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.

Teman-teman peserta Program Magister di PPS Unair dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, atas segala bantuannya sehingga penulisan tesis ini dapat terselesaikan.

Rasa terima kasih khusus saya sampaikan pada suami tercinta Drs. M. Su'aidy, M.Pd dan anak-anakku tersayang Fita dan Andy. Juga Orang tua dan saudara-saudaraku semua atas segala pengorbanan dan perhatian yang telah diberikan pada saya selama studi dan menyelesaikan tesis ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang setimpal atas segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan kepada saya. Amien.

RINGKASAN

Usaha-usaha untuk menemukan suatu obat bagi suatu penyakit dipusatkan pada bahan alam terutama tumbuh-tumbuhan. Kuersetin merupakan suatu flavanoid yang terdapat di alam dan terkandung dalam berbagai makanan, yaitu dalam buah-buahan, sayuran dan juga dalam teh, kopi, coklat, anggur, bir, dan cuka. Kuersetin dapat menghambat pertumbuhan tumor. Sifat anti tumor ini umumnya dimiliki oleh senyawa yang strukturnya mempunyai ciri-ciri: adanya sistem lingkar, sistem lakton, sistem enon, senyawa karbonil tidak jenuh, gugus hidroksil. Kuersetin merupakan senyawa polifenol yang memiliki gugus hidroksil bebas, sehingga kuersetin merupakan senyawa polar yang sukar larut dalam lipid dan akibatnya sukar menembus membran sel. Untuk menurunkan sifat polar ini dapat dilakukan dengan mengurangi gugus OH melalui reaksi asilasi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Asilasi kuersetin dilakukan dengan memasukkan 2 macam gugus asil, yaitu gugus asetil dan gugus benzoil, untuk mengetahui berapa gugus OH yang disubstitusi oleh gugus asil tersebut dilakukan dengan waktu berbeda. Analisis terhadap hasil asilasi dilakukan dengan metode spektroskopi UV-VIS, FTIR, RMI, dan MS. Analisis dengan metode spektrosfotometri FT-IR dan UV-VIS dilakukan di LDB UNAIR, spektrofotometri Resonansi Magnet Inti dan Spektrometri Massa dilakukan di laboratorium MS dan NMR Department of Chemistry UWA, Crawley Perth Australia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada asilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12, 24, dan 36 jam, menghasilkan senyawa yang sama, yaitu kuersetin triasetat. Sedangkan pada benzoilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12 jam, 24 jam, dan 36 jam menghasilkan senyawa yang sama, yaitu kuersetin tetra benzoat. Dari hasil yang diperoleh tersebut menunjukkan bahwa pada asilasi kuersetin, yang berpengaruh pada pembentukan hasil reaksi adalah kestabilan karbokation yang terbentuk sebagai hasil antara dan bukan halangan sterik (halangan yang disebabkan oleh keruahan molekul).

ABSTRACT

The objective of this research is acylation of quercetin in order to get compounds with lower polarity than the precursor quercetin. It is expected that the resulted esthers from the acylation will have better absorbance in the body than the quercetin it self.

The research is a complished by experimental work in laboratory. Acylation of quercetin was done with two ways acetylation and benzoylation using Markham method with time interval of twelve hours, twenty four hours and thirty six hours.

The result of this research showed that the acetylation of quercetin with time intervals twelve, twenty four, and thirty six hours, gave the same compound, that is quercetin tri acetate. On the other hand, benzoylation of quercetin with time intervals twelve, twenty four, and thirty six hours, gave the same compound, that is quercetin tetra benzoat. As a result of the quercetin acetate there are three hydrogen atoms from the hydroxyl group of quercetin were substituted by the acetyl group. The position of those hydrogen atoms were C-7, C-3', and C-4'. While the quercetin benzoate, there are four hydrogen atoms from the hydroxyl group of quercetin were substituted by the benzoyl group. The position of those hydrogen atoms were C-5, C-7, C-3', and C-4'.

Key words: Acylation, Quercetin acetate, Quercetin benzoate.

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Prasyarat Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	viii
Abstrak	ix
Daftar Isi	x
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Flavanoid	5
2.2. Kuersetin dan Sifat-sifatnya	6
2.3. Reaksi Asilasi	11
2.4. Asilasi pada Kuersetin	12
2.5. Reaksi Pembentukan Kuersetin Asetat dan Kuersetin Benzoat	12
2.6. Kestabilan Karbon Positif pada Gugus Asetil dan Gugus Benzoil	13
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	14
3.1. Kerangka Konseptual	14
3.2. Hipotesis Penelitian	16
BAB 4 METODE PENELITIAN	17
4.1. Bahan Kimia	17
4.2. Alat-alat	18
4.3. Prosedur Kerja	18
4.4. Analisis Fisikokimia Hasil Asilasi	21
4.5. Identifikasi Senyawa Hasil Asilasi	23
BAB 5 HASIL PENELITIAN	27
5.1. Data Penelitian	27
5.2. Analisis Hasil Penelitian	35
BAB 6 PEMBAHASAN	47
6.1. Asetilasi Kuersetin	47
6.2. Benzoilasi Kuersetin	51
6.3. Asilasi Kuersetin	54

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN 55
7.1. Kesimpulan 55
7.2. Saran 55
DAFTAR PUSTAKA 56
LAMPIRAN ..... 59 – 75

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1 : Hasil Sintesis Ester Kuersetin Asetat dengan Metode Markham Menggunakan Pereaksi Asetil Klorida 27
Tabel 5.2 : Hasil Sintesis Ester Kuersetin Benzoat dengan Metode Markham ... 27
Tabel 5.3 : Hasil KLT Ester Kuersetin dengan Pengembang BAA 28
Tabel 5.4 : Hasil KLT Ester Kuersetin dengan Pengembang Kloroform 29
Tabel 5.5 : Hasil KLT Ester Kuersetin dari Kromatografi Kolom dengan Pengembang Kloroform 30
Tabel 5.6 : Vibrasi Gugus-gugus yang Terdapat pada Spektrum Infra Merah dari Kuersetin, KA, dan KB 36
Tabel 5.7 : Geseran Kimia Proton pada Senyawa Kuersetin, KA, dan KB 38
Tabel 5.8 : Geseran Kimia untuk Karbon pada Senyawa Kuersetin, KA, dan KB 39
Tabel 5.9 : Panjang Gelombang dan Pergeseran λ Maksimal dari Kuersetin pada Berbagai Pereaksi 46
Tabel 5.10 : Panjang Gelombang dan Pergeseran λ Maksimal dari KA pada Berbagai Pereaksi 46
Tabel 5.11 : Panjang Gelombang dan Pergeseran λ Maksimal dari KB pada Berbagai Pereaksi 46

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	: Tipe Senyawa Flavonoid	6
Gambar 2.2	: Persamaan Reaksi Penentuan Struktur Kuersetin	7
Gambar 2.3	: Sintesis untuk Penentuan Struktur Kuersetin	8
Gambar 2.4	: Contoh-contoh Reaksi Asilasi	11
Gambar 3.1	: Kerangka Konseptual Asilasi Kuersetin	15
Gambar 3.2	: Diagram Alir Sintesis Ester Kuersetin	16
Gambar 5.1	: Spektrum IR dari Kuersetin (a), KA (b), dan KB (c) dengan Pembawa KBr	37
Gambar 5.2	: Spektrum RMI-^{1}H KA (a) dan KB (b) dalam Pelarut $CDCl_3$	40
Gambar 5.3	: Spektrum RMI-^{13}C KA (a) dan KB (b) dalam Pelarut $CDCl_3$ ...	41
Gambar 5.4	: Spektrum Massa Senyawa KA (a), dan KB (b)	42
Gambar 5.5	: Spektrum UV-VIS Senyawa Kuersetin + MeOH; Kuersetin + MeOH + NaOH (a) dan Kuersetin + $AlCl_3$; Kuersetin + $AlCl_3$ + HCl (b)	43
Gambar 5.6	: Spektrum UV-VIS Senyawa KA + MeOH; KA + MeOH + NaOH (a) dan KA + $AlCl_3$; KA + $AlCl_3$ + HCl (b)	44
Gambar 5.7	: Spektrum UV-VIS Senyawa KB + MeOH; KB + MeOH + NaOH (a) dan KB + $AlCl_3$; KB + $AlCl_3$ + HCl (b)	45

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 12,10 – 8,10 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	59
Lamoiran 2	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 7,75 – 7,60 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	60
Lampiran 3	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 7,50 – 7,20 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	61
Lampiran 4	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 6,85 – 6,50 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	62
Lampiran 5	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 2,45 – 1,95 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	63
Lampiran 6	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia1,7 – 0,6 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	64
Lampiran 7	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KB pada Geseran Kimia 8,25 – 7,90 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	65
Lampiran 8	Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KB pada Geseran Kimia 7,70 – 7,35 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	66
Lampiran 9	Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 170 – 140 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	67
Lampiran 10	Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 130 – 100 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	68
Lampiran 11	Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 80 – 70 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	69
Lampiran 12	Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 40 – 10 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	70
Lampiran 13	Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KB pada Geseran Kimia 180 – 140 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	71
Lampiran 14	Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KB pada Geseran Kimia 130 – 110 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$	72
Lampiran 15 :	Spektrum Massa Senyawa KA* (a) dan KB* (b)	73
Lampiran 16 :	Spektrum UV-VIS Senyawa KA* + MeOH; KA* + MeOH + NaOH (a) dan KA* + $AlCl_3$; KA* + $AlCl_3$ + HCl (b)	74
Lampiran 17 :	Spektrum UV-VIS Senyawa KB* + MeOH; KB* + MeOH + NaOH (a) dan KB* + $AlCl_3$; KB* + $AlCl_3$ + HCl (b)	75

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB 1

PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1. Latar Belakang

Usaha-usaha untuk menemukan suatu obat bagi suatu penyakit dipusatkan pada bahan alam terutama tumbuh-tumbuhan. Pada abad 19, bahan alam yang secara empirik telah digunakan oleh manusia untuk pengobatan, telah mulai dikembangkan lebih lanjut untuk isolasi zat aktif, identifikasi struktur kimianya dan pembuatannya secara sintetis. Saat ini diperkirakan lebih dari lima juta senyawa kimia yang sudah diidentifikasi dan jumlah tersebut terus bertambah dengan ± 100.000 senyawa kimia baru setiap tahun. Dari 252 obat pada daftar obat essensial yang dikeluarkan oleh WHO (1985), 48,9% diperoleh dari hasil sintesis kimia (Siswandono, 1995). Peran sintesis yang sampai saat ini terus berkembang adalah dalam memproduksi berbagai bahan-bahan kimia atau bahan obat (Astika, 2001). Sifat-sifat fisika, kimia maupun fisiologi yang telah ditemukan pada senyawa bahan alam, telah membuka peluang untuk dilakukan kajian ilmiah untuk pemanfaatan dan pengembangan sebagai bahan obat-obatan (Sutrisno, 2000). Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi maka telah ditemukan adanya hubungan struktur kimia obat dengan sifat-sifatnya dan telah pula ditemukan bahwa unit-unit struktur atau gugus-gugus molekul obat berkaitan dengan aktivitas biologinya (Siswandono, 1995).

Kuersetin merupakan suatu flavonoid yang terdapat di alam dan terkandung dalam berbagai makanan, yaitu dalam buah-buahan, sayuran dan juga dalam teh, kopi, serbuk coklat, anggur, bir dan cuka. Kuersetin dapat menghambat pertumbuhan tumor dan telah diperoleh bukti-bukti eksperimen mengenai mekanismenya (Rossi M., 1986). Sifat anti tumor pada umumnya dimiliki oleh senyawa yang strukturnya mempunyai ciri-ciri antara lain: adanya sistem lingkar (umumnya lingkar yang terkondensasi (Condensed ring system), sistem lakton, sistem enon (-C=C-C=O), senyawa karbonil tidak jenuh (α, β), jembatan oksida dalam sistem siklik dan gugus hidroksi (-OH) (Sutrisno, 2000).

Sasaran kerja suatu senyawa anti tumor pada dasarnya dapat dikelompokkan dalam 2 golongan, yaitu enzim dan asam nukleat. Untuk mencapai sasaran tersebut maka senyawa anti tumor harus masuk ke dalam sel dengan melintasi membran sel. Dengan demikian maka sifat kelarutan dari senyawa anti tumor tersebut harus sesuai dengan perilaku molekul-molekul penyusun membran sel. Komponen utama membran sel adalah lipid dan protein. Lipid menyusun 20 – 80% massa membran sel, tergantung pada jenis membrannya (Sutrisno, 2000).

Senyawa dengan kepolaran rendah akan mudah larut dalam lipid, sehingga mudah menembus membran sel. Aktivitas senyawa anti tumor berkaitan dengan sifat lipofilisitas, yaitu mudah tidaknya senyawa tersebut larut dalam lipid (Sutrisno, 2000).

Kuersetin adalah senyawa polifenol, yang memiliki 5 gugus hidroksil bebas, sehingga merupakan senyawa yang polar yang umumnya larut dalam pelarut

yang polar seperti air dan sukar larut dalam lipid, sehingga sukar menembus membran sel. Untuk menurunkan sifat polar dari kuersetin ini dapat dilakukan dengan cara mengurangi gugus OH bebas dengan gugus asil melalui reaksi asilasi untuk memperoleh esternya. Dengan berkurangnya gugus hidroksil bebas dalam kuersetin ini diharapkan dapat diperoleh suatu senyawa baru yang kepolarannya lebih rendah dari kuersetin asalnya, sehingga akan lebih mudah larut dalam lipid dan mudah menembus membran sel. Gugus asil yang sering digunakan dalam reaksi asilasi adalah gugus asetil dan benzoil. Hal ini disebabkan karena kedua senyawa tersebut mudah diperoleh dan dapat bereaksi dengan kuersetin. Reaksi pembentukan ester dipengaruhi oleh halangan sterik molekul pereaksi. Kuersetin merupakan molekul dengan halangan sterik yang besar, untuk membentuk ester-nya diperlukan gugus asil dengan halangan sterik kecil. Gugus asetil merupakan gugus terkecil dari golongan asam karboksilat alifatik dan gugus benzoil meru-pakan gugus terkecil dari golongan asam karboksilat aromatik (Fessenden, 1990). Kuersetin memiliki 5 gugus –OH yang memungkinkan untuk disubstitusi oleh gugus asetil atau benzoil.

Mengingat kuersetin memiliki aktivitas sebagai anti tumor, maka dengan harapan akan diperoleh senyawa baru yang lebih rendah kepolarannya daripada kuersetin dan untuk menambah koleksi senyawa turunan kuersetin yang berguna untuk penelitian lebih lanjut, maka sintesis ester kuersetin perlu dilakukan.

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut.

1. Pada asilasi kuersetin, gugus –OH yang manasajakah yang disubstitusi oleh gugus asetil?
2. Pada benzoilasi kuersetin, gugus –OH yang manasajakah yang disubstitusi oleh gugus benzoil?
3. Apakah perbedaan waktu reaksi memberikan perbedaan pada hasil asilasi?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian dalam latar belakang dan rumusan masalah, maka penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan turunan kuersetin melalui reaksi asilasi, yaitu asetilasi dan benzoilasi dan untuk mengetahui pengaruh waktu terhadap hasil asilasi.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menambah koleksi senyawa turunan kuersetin yang berguna untuk penelitian-penelitian lebih lanjut.

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

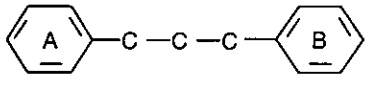
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

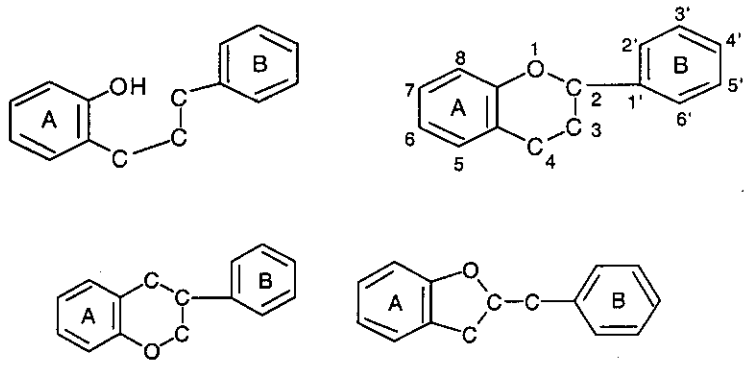
2.1. Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa yang terdapat dalam tanaman dan semuanya adalah turunan dari flavon. Flavonoid beserta analog sintetiknya memiliki sifat-sifat sebagai zat penghambat karsinogenesis; anti peradangan dan anti alergenik; sebagai zat anti oksidan yang memiliki aktivitas cardiostimulan; sebagian diantaranya mutagenik, meskipun tidak karsinogenik; sebagai substrat, penghambat dan penginduksi; dan dapat berinteraksi dengan berbagai sistem enzim (Rossi M., 1986).

Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mengandung 15 atom karbon pada intinya, yang terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Lingkar A memiliki karakteristik bentuk hidroksilasi floroglusinol atau resorsinol dan lingkar B biasanya 4; 3, 4 atau 3, 4, 5-terhidroksilasi dengan struktur dasar sebagai berikut.



Fragmen tiga karbon yang terikat pada lingkar B umumnya memiliki 4 bentuk seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1 berikut.



Gambar 2.1 Tipe Umum Senyawa Flavanoid

Lingkar A selalu memiliki gugus hidroksil dengan posisi sedemikian rupa sehingga memberikan kemungkinan untuk terbentuknya cincin heterosiklis dalam senyawa trisiklis.

Tingkat oksidasi tiga karbon bagian molekul flavonoid dapat dinyatakan oleh hubungan formal seperti yang ditunjukkan berikut ini.

A — $COCH_2CH_2$ — B	: hidrokhalkon
A — $COCH_2$ – CHOH — B	: flavanon, khalkon
A — $COCH_2CO$ — B	: flavon
A — CH_2COCO — B	: antosianin
A — CO – CO – CH_2 — B	: auron
A — COCHOH – CHOH — B – 3	: hidroksiflavon
A — COCOCHOH — B	: flavanol (Sabirin M., 1996)

2.2. Kuersetin dan Sifat-sifatnya

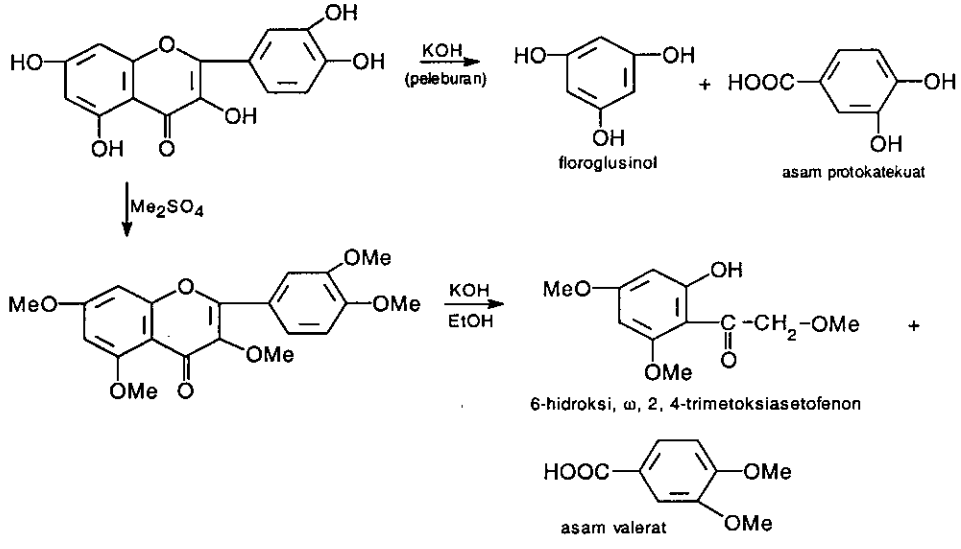
Kuersetin merupakan flavonoid yang terdapat di alam dan terkandung dalam berbagai makanan, yaitu dalam buah-buahan, sayuran, dan juga dalam teh,

kopi, serbuk coklat, anggur, bir dan cuka. Kuersetin terdapat dalam bentuk glikosida kuersitrin dalam batang tumbuhan Quercus tinctoria. Diduga bahwa kuersitrin banyak terdapat dalam pigmen alami (Finar, 1974).

Dalam hidrolisis dengan asam, kuersitrin membentuk kuersetin dan ramnosa, dengan persamaan reaksi sebagai berikut.

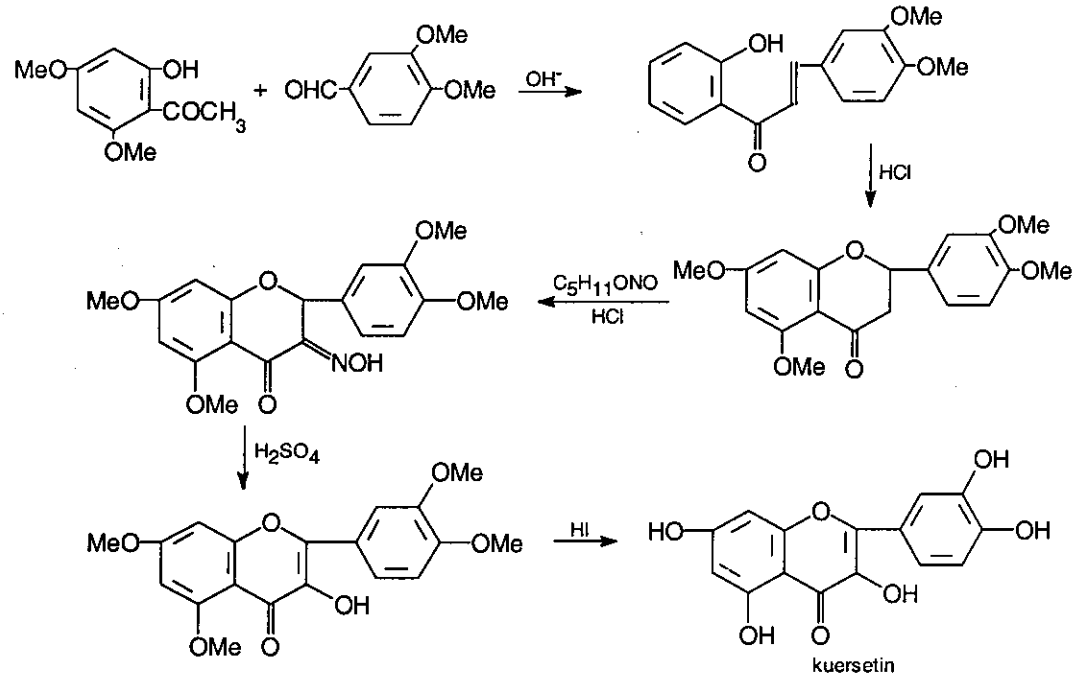
$$\underset{\text{Kuersitrin}}{C_{21}H_{20}O_{11}} + H_2O \xrightarrow{HCl} \underset{\text{kuersetin}}{C_{15}H_{10}O_7} + CH_3(CHOH)_4CHO$$

Dalam molekul kuersetin terdapat 5 gugus OH, dan bila dileburkan bersama-sama dengan KOH menghasilkan floroglusinol dan asam protokatekuat. Bila kuersetin dimetilasi menghasilkan pentametil kuersetin , yang apabila dididihkan dengan larutan KOH alkoholik terjadilah 6-hidroksi-ω,2,4-trimetoksiasetofenon dan asam valerat. Fakta-fakta ini mengarahkan pada kesimpulan bahwa kuersetin adalah 3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksiflavon. Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 2.2 berikut.



Gambar 2.2. Persamaan Reaksi Penentuan Struktur Kuersetin

Struktur kuersetin ditentukan melalui sintesis oleh Konstanecki dkk. pada tahun 1904 seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3 berikut.



Gambar 2.3. Sintesis untuk Penentuan Struktur Kuersetin

Kuersetin memiliki sifat-sifat mutagenik tetapi tidak karsinogenik; dapat berinteraksi dengan sejumlah sistem enzim yang berbeda-beda; memiliki aktivitas anti tumor, termasuk daya penghambatnya pada isozim sitokrom P-450 yang spesifik untuk metabolisme hidrokarbon aromatik polisiklik; menghambat pertumbuhan tumor, dan telah diperoleh bukti-bukti eksperimen mengenai mekanismenya; menghambat aktivitas beberapa enzim yang termasuk adenosintrifosfatase yang terlibat dalam transport membran; menimbulkan retensi laktat interseluler sehingga menurunkan pH sel; menghambat lipoksigenase dan "cAMP" (ciclic Adenosine Mono Phosphat) independent proteinkinase; menghambat pembebasan

histamin dengan transport Ca^{2+} menembus membran; menghambat aktivitas enzim reduktase aldosa, yang ternyata mempunyai fungsi dalam sejumlah komplikasi diabetik. Enzim reduktase aldosa dapat mereduksi heksosa menjadi gula alkohol (Rossi M., 1986).

Dengan keanekaragaman sifat kuersetin tersebut, maka telah membuka peluang untuk dilakukannya kajian ilmiah untuk pemanfaatan dan pengembangannya sebagai bahan obat-obatan, terutama sebagai penghambat pertumbuhan tumor, karena aktivitasnya sebagai anti tumor.

Beberapa hasil kajian telah menemukan bahwa kuersetin secara nyata menghambat NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphat) sitokrom P-450. Kuersetin juga telah terbukti mempunyai daya menghambat sistem sitokrom P-450. Huang et. al telah menemukan bahwa kuersetin bereaksi secara kovalen dengan "karsinogen terakhir" dari benzo[a] pirena, (±)-7β, 8α-dihidroksi-9α, 10α-epoksi-7, 8, 9, 10-tetrahidrobenz[a]pirena. Kompleks yang terbentuk ini bersifat nontoksik dan dibuang (Rossi M., 1986).

Sasaran kerja senyawa anti tumor pada dasarnya dapat dikelompokkan dalam dua golongan, yaitu: (1) enzim dan asam nukleat (Sutrisno, 2000). Untuk dapat mencapai sasaran tersebut, senyawa anti tumor harus masuk ke dalam sel dengan melalui membran sel. Dengan demikian maka sifat molekul senyawa anti tumor tersebut harus sesuai dengan sifat dari molekul-molekul penyusun membran sel. Komponen utama penyusun membran sel adalah lipid dan protein, dengan lipid yang merupakan komponen utama membran menyusun 20 sampai 80% massa

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

membran, tergantung pada jenis membrannya. Senyawa anti tumor dengan kepolaran rendah akan lebih mudah larut dalam lipid dan dengan mudah menembus membran sel untuk melakukan interaksi dengan molekul sasaran. Aktivitas senyawa anti tumor berhubungan dengan sifat mudah tidaknya senyawa tersebut larut dalam lipid (Sutrisno, 2000).

Hasil kajian pustaka menunjukkan adanya hubungan antara struktur dengan aktivitas biologis suatu senyawa terhadap sifat anti tumor. Senyawa yang bersifat anti tumor pada umumnya dalam strukturnya mempunyai ciri-ciri antara lain: adanya sistem lingkar terutama lingkar yang terkondensasi, sistem lakton, jembatan oksida dalam siklik, sistem karbonil tidak jenuh α, β, dan mempunyai ikatan rangkap serta adanya gugus hidroksi (Sutrisno, 2000). Bertambahnya kandungan gugus-gugus fungsi onal tersebut dalam suatu molekul ternyata diikuti dengan peningkatan aktivitas anti tumornya.

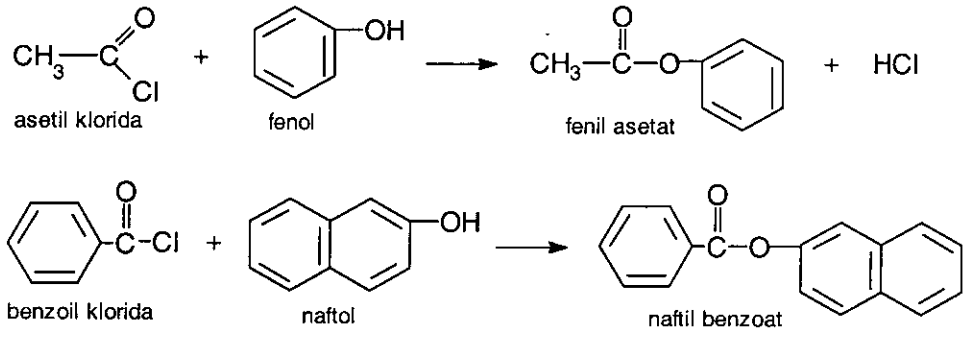
Kuersetin adalah senyawa polifenol yang memiliki lima buah gugus hidroksil bebas, dan merupakan senyawa yang polar. Karena kuersetin adalah senyawa polar, yang umumnya larut dalam pelarut yang polar seperti air, dan sukar larut dalam lipid, dengan demikian kuersetin sukar menembus membran sel.

Untuk menurunkan kepolaran dari kuersetin dapat dilakukan dengan cara mengurangi gugus –OH bebas yang ada dengan gugus asil melalui reaksi asilasi. Dengan berkurangnya gugus –OH bebas dalam kuersetin ini, diharapkan akan diperoleh senyawa baru yang kepolarannya lebih rendah daripada kuersetin asalnya, tetapi akan lebih mudah larut dalam lipid sehingga akan lebih mudah pula

menembus membran sel. Gugus asil yang akan disubstitusikan dalam kuersetin pada penelitian ini adalah gugus asetil dan gugus benzoil. Kedua gugus asil ini dipilih karena keduanya dapat mewakili gugus asil dari asam alifatik dan aromatik.

2.3 Reaksi Asilasi

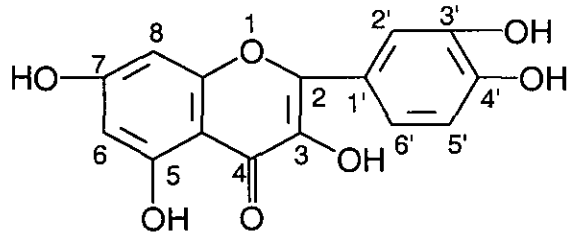
Reaksi asilasi pada fenol tidak melibatkan pemaksa pisahan ikatan C-O yang kuat dari fenol, tetapi tergantung pada pemaksapisahan ikatan –OH. Fenol adalah senyawa dengan suatu gugus OH yang terikat pada cicin aromatik. Karena ikatan karbon sp^2 lebih kuat daripada ikatan karbon sp^3 maka ikatan C-O pada fenol tidak mudah diputuskan tetapi ikatan OH mudah putus. Karenanya ester dari fenol dapat disintesis dengan reaksi asilasi yang sama dengan ester-ester alkil (Fessenden, 1990).



Gambar 2.4. Contoh-contoh Reaksi Asilasi

2.4. Asilasi pada Kuersetin

Kuersetin adalah suatu penta hidroksiflavon dengan lima buah gugus hidroksi dalam molekulnya dengan rumus struktur sebagai berikut.

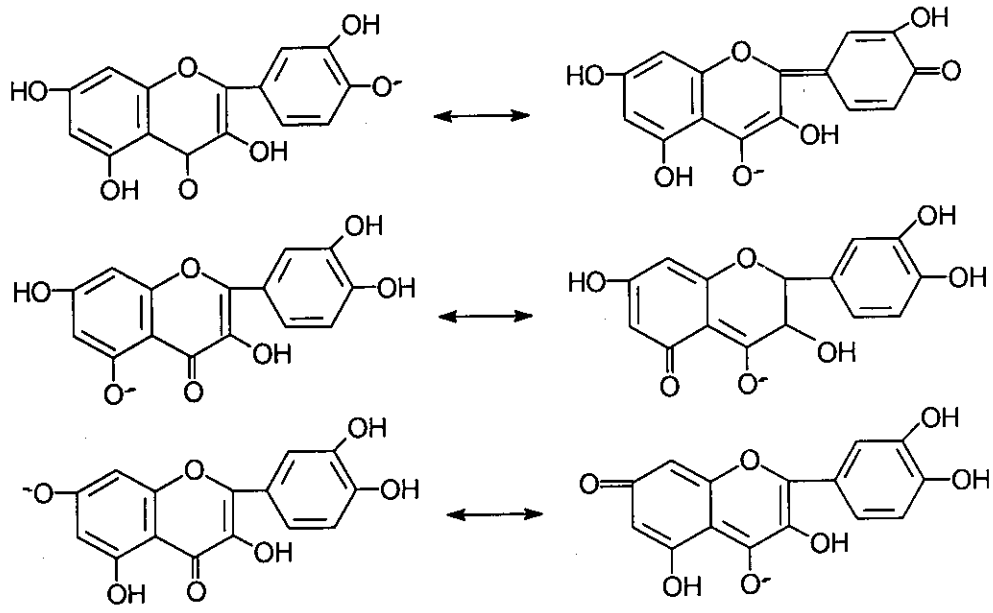


Asilasi pada kuersetin berlangsung sama dengan asilasi pada fenol, dan berlangsung lebih mudah daripada alkohol, karena ikatan O–H pada fenol lebih mudah putus daripada ikatan O–H pada alkohol. Hal ini disebabkan karena fenol lebih bersifat asam daripada alkohol (Fessenden, 1990). Dengan demikian maka asilasi pada kuersetin dapat menghasilkan ester dengan penggantian satu sampai lima atom H dari gugus OH pada kuersetin oleh gugus asil.

2.5. Reaksi Pembentukan Kuersetin Asetat dan Kuersetin Benzoat

Pada reaksi pembentukan ester dengan reaksi asilasi, melibatkan serangan alkohol nukleofilik pada karbon positif, maka ion negatif yang lebih stabil dari alkohol (fenolnya) yang memiliki peluang lebih besar dalam pembentukan esternya. Stabilisasi ion negatif dari kuersetin dapat dilihat pada struktur resonansi berikut (Engelkemeir, 1947).

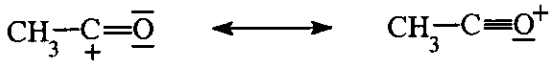
MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



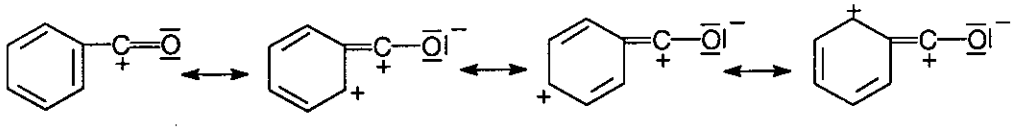
Dengan kestabilan ion fenoksida karena stabilisasi resonansi ini, maka pada asilasi kuersetin oleh gugus asil dapat dihasilkan ester kuersetin dengan penggantian paling sedikit tiga gugus –OH pada kuersetin oleh gugus asil.

2.6. Kestabilan Karbon Positif pada Gugus Asetil dan Gugus Benzoil

Gugus asetil distabilkan oleh struktur-struktur resonansi sebagai berikut:



Sedangkan gugus benzoil distabilkan oleh struktur-struktur resonansi sebagai berikut.



Dengan lebih banyak struktur resonansi pada gugus benzoil, maka gugus benzoil lebih stabil daripada gugus asetil (Jerry March, 1977).

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

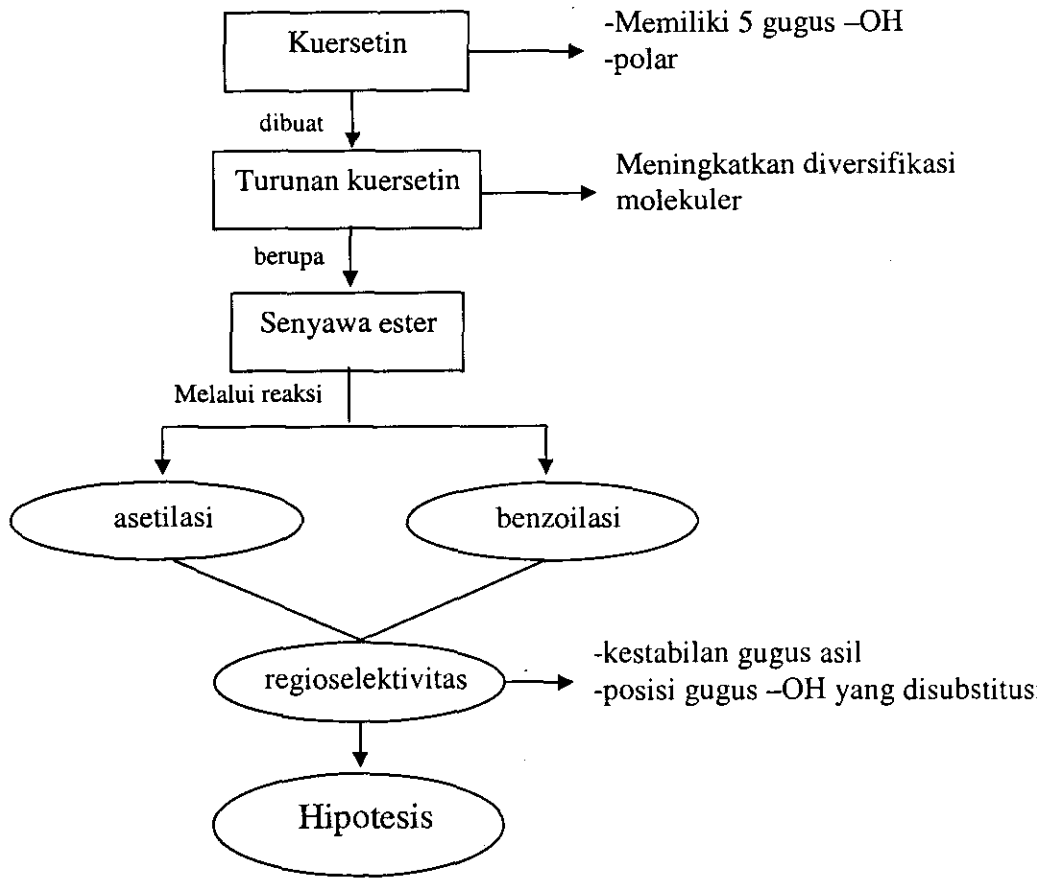
3.1. Kerangka Konseptual

Kuersetin adalah senyawa polifenol yang memiliki lima gugus hidroksil bebas, yang menyebabkan kuersetin bersifat polar. Senyawa yang polar umumnya larut dalam pelarut yang polar dan sukar larut dalam lipid, sehingga sukar menembus membran sel, karena komponen utama membran sel adalah lipid dan protein. Sebagai senyawa yang bersifat menghambat pertumbuhan sel tumor, maka untuk mencapai sasarannya, senyawa tersebut harus masuk ke dalam sel melintasi membran sel. Untuk menurunkan kepolaran dari kuersetin ini dapat dilakukan dengan cara mengurangi gugus OH bebas dengan mengikatkan gugus asil melalui reaksi asilasi. Dengan berkurangnya gugus hidroksil bebas tersebut diharapkan akan diperoleh suatu senyawa yang kepolarannya lebih rendah dari kuersetin asalnya, sehingga lebih mudah menembus membran sel.

Asilasi kuersetin dapat dilakukan dengan cara asetilasi kuersetin dengan asetil klorida dan benzoilasi dengan benzoil klorida. Asilasi pada kuersetin ini berlangsung seperti asilasi pada fenol. Pada reaksi asetilasi kuersetin akan dihasilkan kuersetin asetat, sedangkan pada benzoilasi kuersetin dengan benzoil klorida akan dihasilkan kuersetin benzoat (Watson, 1914). Pada asetilasi kuersetin dapat terjadi penggantian tiga gugus OH oleh gugus asetil, sedangkan pada benzoilasi

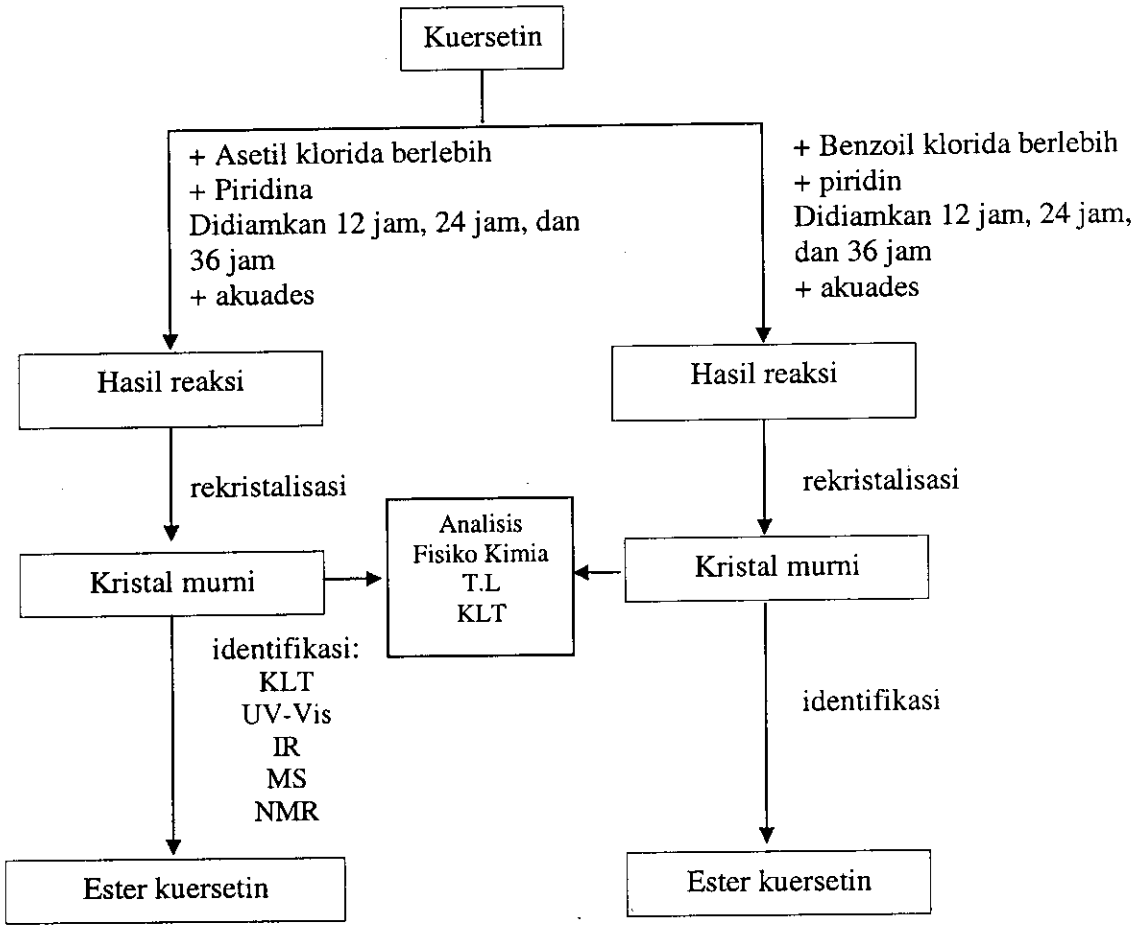
kuersetin dapat terjadi penggantian empat gugus OH oleh gugus benzoil. Hal ini karena kestabilan gugus asetil lebih rendah daripada kestabilan gugus benzoil.

Secara skematis kerangka konseptual dalam penelitian ini dapat digambarkan seperti yang terlihat pada Gambar 3.1. berikut.



Gambar 3.1: Kerangka Konseptual Asilasi Kuersetin

Diagram alir asilasi kuersetin adalah sebagai berikut.



Gambar 3.2. Diagram Alir Asilasi Kuersetin

3.2. Hipotesis Penelitian

1. Pada asetilasi kuersetin, terjadi substitusi tiga gugus –OH pada kuersetin oleh gugus asetil menghasilkan kuersetin-5, 7, 4'-triasetat.
2. Pada benzoilasi kuersetin, terjadi substitusi empat buah gugus –OH pada kuersetin oleh gugus benzoil menghasilkan kuersetin-5, 7, 3', 4'-tetrabenzoat.

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini dalam derajad pro analisis kecuali bila diberi keterangan lain. Bahan-bahan kimia tersebut adalah:

- kuersetin (Fluka, Biochemica 83370, 99% HPLC)
- benzoil klorida
- asetil klorida
- anhidrida asetat
- piridina
- etanol
- metanol
- aseton
- nitrobenzena
- kloroform
- asam sulfat pekat
- asam klorida pekat
- aluminium oksida, 90, Merck: 0,063-0,200 nm (70-230 mesh ASTM)
- silika gel Q-12. 28-200 mesh
- NaOH
- $AlCl_3$

4.2 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat yang umum digunakan dalam laboratorium sintesis, sedangkan untuk analisis hasil sintesis digunakan alat-alat bantu sebagai berikut.

- Electrothermal Melting Point Apparatus untuk menentukan kemurnian senyawa melalui titik leburnya.
- Spektrometer Massa (VG Autospec dari Fisons Instruments)
- Spektrofotometer UV-VIS (UV-VIS-NIR, Recording Spectrophotometer UV-365 Shimadzu)
- Spektrofotometer FT-IR (Red JASCO)
- Spektrofotometer NMR (Bruker FT NMR 500 MHz)

4.3. Prosedur Kerja

4.3.1. Asetilasi Kuersetin dengan Metode Markham

Ke dalam erlenmeyer 50 mL, dimasukkan masing-masing 500 mg kuersetin dan 10 mL piridina dikocok hingga larut/campur. Kemudian tambahkan 10 mL asetil klorida. Erlenmeyer ditutup dan disimpan dalam ruang tertutup pada suhu kamar selama 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Selanjutnya campuran dituang ke dalam erlenmeyer 1000 mL yang berisi 750 mL akuades sambil diaduk dan kemudian didiamkan selama 1 jam. Endapan yang diperoleh disaring dengan corong Buchner dan dikeringkan dalam desikator. Setelah kering endapan direkristalisasi

dengan campuran etanol dan air. Kristal yang diperoleh ditentukan titik leburnya dan diidentifikasi strukturnya.

4.3.2. Benzoilasi Kuersetin dengan Metode Markham

Ke dalam erlenmeyer 50 mL dimasukkan 500 mg kuersetin, 15 mL piridina dan diaduk. Kemudian ditambah 15 mL benzoil klorida. Erlenmeyer kemudian ditutup dan disimpan selama 12 jam, 24 jam, dan 36 jam dalam ruang tertutup pada suhu kamar. Selanjutnya campuran reaksi dituang ke dalam erlenmeyer 1000 mL yang berisi 750 mL akuades sambil diaduk dan didiamkan selama 1 jam. Endapan yang diperoleh disaring dengan corong Buchner dan dikeringkan dalam desikator. Zat padat yang diperoleh selanjutnya direkristalisasi dengan campuran aseton-air. Kristal yang diperoleh ditentukan titik leburnya dan diidentifikasi strukturnya.

4.3.3. Pemurnian Hasil Asilasi dengan Kromatografi Kolom

Sebelum dilakukan analisis untuk penentuan struktur, kristal yang belum murni (dilihat dari hasil penentuan titik leburnya dan KLT) dimurnikan dengan menggunakan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan pada kromatografi kolom ini ditentukan berdasarkan hasil dari KLT, yaitu silika gel dengan fase gerak kloroform, campuran kloroform dan metanol dengan perbandingan volume 7 : 3; 6 : 4; 5 : 5; 4 : 5; metanol, dan campuran metanol-air dengan perbandingan 1: 1.

Pelaksanaan kromatografi kolom ini diawali dengan pengemasan kolom. Pertama-tama kolom diisi dengan eluen sampai kira-kira 10 cm di atas penyaring kaca. Kemudian fase diam yang sudah dibuat bubur dalam gelas piala dengan pelarut yang sama dengan pelarut pengelusi dituangkan dengan hati-hati ke dalam kolom dengan tidak terputus-putus. Setelah fase diam dibiarkan turun, pelarut yang berlebihan dibiarkan mengalir melalui kran (Markham, 1988).

Tahap berikutnya adalah menempatkan cuplikan yang telah dilarutkan pada bagian atas kolom dengan hati-hati sampai terbentuk pita yang siap untuk dielusi. Cuplikan dibiarkan meresap perlahan-lahan ke dalam kolom dengan membuka kran sedikit. Bila bagian atas kemasan kolom sudah terbuka, kran ditutup dan sedikit pelarut pengelusi dimasukkan lagi dengan hati-hati dan dibiarkan meresap ke dalam kolom. Setelah itu baru pelarut pengelusi ditambahkan dan proses kromatografi dimulai dengan mengelusi secara perlahan-lahan. Pita yang memisah dalam kolom dikumpulkan dalam wadah yang terpisah. Jika pita tidak berwarna eluat ditampung dalam tabung fraksi dengan jumlah volume masing-masing 5 mL. Selanjutnya fraksi hasil kolom dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan adsorben silika gel GF_{254} pada pelat aluminium dengan penampak noda lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Fraksi-fraksi yang menghasilkan satu noda dengan Rf yang sama dikumpulkan dan selanjutnya diuapkan. Hasil pemurnian dengan kromatografi kolom ini selanjutnya dianalisis untuk penentuan strukturnya.

4.4. Analisis Fisiko Kimia Hasil Asilasi

4.4.1. Penentuan Titik Lebur

Titik lebur suatu kristal padat adalah suhu mulai berubahnya padatan tersebut menjadi cair di bawah tekanan satu atmosfer. Untuk senyawa murni perubahan dari keadaan padat menjadi cair sangat tajam (dalam 0,5°C). Pada saat terjadinya perubahan fasa, temperatur tetap atau merupakan trayek yang kecil sekali, energi yang ditambahkan tidak menaikkan temperatur, melainkan untuk merubah fasa dari padat menjadi cair. Demikian pula sebaliknya, pengurangan energi tidak menurunkan temperatur tetapi digunakan untuk mengubah fasa dari cair menjadi padat (Sudjadi, 1988).

Kristal hasil asilasi diambil secukupnya, kemudian dihaluskan dan dimasukkan ke dalam pipa kapiler. Pipa kapiler yang sudah berisi kristal kemudian dipasang pada alat electrothermal Melting Point Apparatus. Tekan tombol pada posisi on dan amati suhu pada saat zat mulai melebur yang ditandai dengan buramnya pipa kapiler sampai semua zat melebur. Untuk senyawa padatan murni, waktu mulai melebur sampai melebur semua tidak ada kenaikan temperatur atau merupakan trayek perubahan temperatur yang kecil sekali (Wasilah A.S., 1978).

4.4.2. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorbsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur. Pemilihan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campur sangat dipengaruhi oleh macam dan

polaritas zat-zat kimia yang dipisahkan (Mulja M., 1995). Pada pemisahan dengan KLT ini nantinya akan diperoleh kromatogram yang merupakan noda-noda yang terpisah, setelah visualisasi dengan cara fisika, yaitu dengan melihat noda kromatogram yang mengadsorbsi radiasi ultraviolet atau berfluorosensi dengan radiasi ultraviolet pada $\lambda = 254$ nm. Noda kromatogram tiap-tiap komponen yang terpisah setelah visualisasi tampak sebagai noda yang bulat apabila proses pemisahan terjadi dengan baik. Bila proses pemisahan tidak sempurna akan terjadi pengekoran (noda tidak bulat). Pengekoran juga dapat terjadi karena ketidakjenuhan tanki KLT, sehingga fase mobil yang mengelusi pelat KLT segera menguap dalam ruangan tanki KLT. Pengekoran dapat juga terjadi karena pemilihan fase mobil yang tidak tepat terhadap fase diam dan macam sampel. Untuk menghindari hal tersebut dapat dilakukan dengan cara:

1. Memanaskan pelat KLT pada suhu 105-110° C selama 60 menit dan didinginkan dalam eksikator.
2. Menjenuhkan tanki dengan uap fase mobil
3. Penotolan sampel pada jarak 2,5 cm dari dasar dengan diameter seminimal mungkin
4. Elusi diusahakan selesai setelah migrasi fase mobil mencapai ketinggian 2,5 cm sebelum puncak pelat
5. Waktu elusi kurang dari 20-45 menit
6. Selama proses elusi temperatur ruangan juga harus dijaga.

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

Dalam penelitian ini KLT digunakan untuk mengetahui terbentuknya zat hasil asilasi dengan cara membandingkan *Rf* zat hasil sintesis dengan *Rf* kuersetin asalnya. Di samping itu juga untuk mengetahui kemurnian dari hasil asilasi.

4.5. Identifikasi Senyawa Hasil Asilasi

4.5.1. Analisis dengan Spektrofotometri UV-VIS.

Dengan menggunakan metode ini akan dapat diketahui kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti kuersetin. Cara penentuannya dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran serapan puncak yang terjadi. Dengan demikian dapat di ketahui kedudukan gugus asil yang terikat pada gugus hidroksil fenol.

Keuntungan cara ini adalah penggunaan yang sedikit dari cuplikan yang dianalisis, yaitu 0,1 mg. Spektrum dari cuplikan ditentukan dalam larutan dalam metanol A.R yang diukur pada rentang panjang gelombang 140-550 nm. Spektrum khas dari flavanoid secara umum terdiri atas dua maksimum pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 330-550 nm (pita I) (Markham: 1988). Keragaman dalam rentang maksimum ini tergantung pada pola hidroksilasi dan derajad substitusi gugus hidroksil.

4.5.2. Analisis dengan Spektrofotometri FT/IR

Spektrofotometri infra merah merupakan cara paling sederhana dan sering digunakan dalam penentuan golongan senyawa. Hal ini disebabkan karena banyak gugus fungsi dapat diidentifikasi dengan menggunakan frekuensi getaran

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

khasnya. Daerah pada spektrum dengan bilangan gelombang di atas 1200 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum atau puncak yang disebabkan oleh getaran ikatan kimia atau gugus fungsi dalam molekul yang diidentifikasi, sedangkan spektrum dengan bilangan gelombang di bawah 1200 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum atau puncak yang disebabkan oleh getaran seluruh molekul, yang karena kerumitannya dikenal sebagai daerah sidik jari. Intensitas berbagai pita direkam secara subyektif pada skala kuat (k), sedang (s), atau lemah (l) (Harborne, 1987).

4.5.3. Analisis dengan Spektrometri Resonansi Magnet Inti

4.5.3.1. Spektroskopi Resonansi Magnet Proton (RMI-^{1}H)

Spektroskopi RMI proton pada hakekatnya merupakan sarana untuk menentukan struktur senyawa organik dengan mengukur momen magnet atom hidrogennya. Spektrum RMI proton merupakan rekaman sejumlah atom hidrogen yang berada dalam lingkungan yang berlainan.

Dalam prakteknya, larutan cuplikan dalam pelarut inert ditempatkan di antara kutub magnet yang kuat, dan proton akan mengalami geseran kimia yang berbeda sesuai dengan lingkungan dalam molekulnya. Geseran kimia ini diukur nisbi terhadap baku yang biasanya tetrametil silana (TMS) yang merupakan senyawa yang inert yang dapat ditambahkan ke dalam larutan cuplikan tanpa adanya kemungkinan terjadi reaksi kimia. Geseran kimia diukur dengan satuan ppm.

Spektrum RMI proton ini dapat sangat rumit karena adanya antaraksi proton yang terikat pada atom karbon yang berdampingan. Sinyal spektrum dapat tampak sebagai "doblet" atau "triplet" dan bukan puncak tunggal. Meskipun de-

mikian, informasi dapat diperoleh tanpa harus menganalisis spektrum secara rinci. Spektrum RMI proton tidak dapat memberikan informasi langsung mengenai kerangka karbon molekul. Informasi tentang kerangka-kerangka molekul hanya dapat diperoleh dengan spektroskopi RMI karbon-13 (RMI-^{13}C).

4.5.3.2. Spektroskopi Resonansi Magnet Inti Karbon (RMI-^{13}C)

Sinyal dari atom karbon dalam alat spektroskopi RMI-^{13}C dapat dideteksi karena adanya sejumlah kecil atom ^{13}C bersama-sama dengan ^{12}C dalam senyawa alam dari tumbuhan. Momen magnet yang dihasilkan oleh ^{13}C lebih kecil dari pada momen magnet proton, sehingga sinyal yang dihasilkan lebih lemah. Pelarut yang digunakan sama seperti pada RMI proton tetapi rentang resonansi karbon jauh lebih besar, yaitu 0-200 ppm bawah medan TMS, sedangkan pada RMI proton rentangnya 0-10 ppm. Dengan demikian, maka spektrum RMI-^{13}C jauh lebih teresolusi, dan umumnya setiap karbon dalam molekul dapat ditetapkan sinyalnya.

Spektroskopi RMI-^{13}C merupakan pelengkap RMI-^{1}H dan kombinasi keduanya merupakan alat yang memadai untuk penentuan struktur senyawa flavanoida (Harborne, 1987).

4.5.4. Analisis dengan Spektrometri Massa (SM)

Spektroskopi massa pada dasarnya adalah penguraian senyawa organik dan perekaman pola fragmentasi menurut massanya . Uap cuplikan berdifusi ke dalam sistem spektrometer massa yang bertekanan rendah, kemudian diionkan

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

dengan energi yang cukup untuk memutus ikatan kimia. Ion bermuatan positip yang terbentuk dipercepat dalam medan magnet yang menyebarkan ion tersebut dan memungkinkan dilakukan pengukuran kelimpahannya. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa merupakan grafik spektrum massa yang terdiri atas sederetan garis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa yang berlainan.

Pada kebanyakan senyawa, sebagian kecil dari senyawa induk tahan terhadap proses penguapan sehingga akan terekam sebagai puncak ion molekul atau ion induk. Massa ion induk dan ion lainnya dapat diukur dengan sangat tepat (sampai 0,0001 satuan massa). Ketepatannya sedemikian rupa sehingga dapat menunjukkan rumus molekul secara tepat (Harborne, 1987).

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1. Data Penelitian

Hasil sintesis ester kuersetin asetat dengan metode Markham menggunakan pereaksi asetil klorida dapat dilihat pada Tabel 5.1 berikut.

Tabel 5.1 Hasil Sintesis Ester Kuersetin Asetat dengan Metode Markham Menggunakan Pereaksi Asetil Klorida

Pereaksi	Waktu Reaksi	Hasil Sintesis	Hasil Rekristalisasi	Bentuk Kristal	Titik Lebur
Asetil klorida	12 jam	0,31	0,12 g	jarum putih kekuningan	140-141°C
	24 jam	0,59	0,21 g		141-142°C
	36 jam	0,58	0,21 g		141-142°C

Sedangkan hasil sintesis ester kuersetin benzoat dengan metode Markham dapat dilihat pada Tabel 5.2 berikut.

Tabel 5.2 Hasil Sintesis Ester Kuersetin Benzoat dengan Metode Markham

Waktu Reaksi	Hasil Sintesis	Hasil Rekristalisasi	Bentuk Kristal	Titik Lebur
12 jam	4,93 g	2,98 g	Jarum putih	101-102°C
24 jam	5,24 g	3,91 g	Jarum putih	102-103°C
36 jam	5,16 g	3,75 g	Jarum putih	101-102°C

Untuk mengetahui apakah senyawa hasil sintesis sudah merupakan senyawa baru yang berbeda dengan senyawa induknya (asalnya) dan untuk melihat kemurniannya, dapat dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis dengan fase gerak yang berbeda-beda sampai diperoleh pemisahan dan noda yang memenuhi syarat (bagus). Dari hasil kromatografi lapis tipis ini diharapkan dapat

diketahui apakah hasil sintesis merupakan senyawa yang baru dan dapat pula diketahui kemurniannya.

Bila Rf senyawa hasil sintesis berbeda dengan Rf senyawa induk maka senyawa hasil sintesis merupakan senyawa baru, dan bila jumlah noda yang dihasilkan pada kromatografi lapis tipis merupakan bercak tunggal berarti senyawanya sudah murni. Tetapi bila jumlah nodanya lebih dari satu bercak, maka menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesisnya belum murni. Dengan demikian harus dicari upaya untuk memurnikan senyawa tersebut lebih lanjut.

Pada sintesis ester kuersetin, senyawa ester yang dihasilkan, pada uji KLT memberikan Rf yang berbeda dengan Rf kuersetin. Hal ini menunjukkan bahwa pada sintesis ester tersebut telah terbentuk senyawa baru, yaitu senyawa ester dari kuersetin. Hasil KLT dari kuersetin dan ester kuersetin hasil sintesis dengan pengembang BAA dan kloroform dapat dilihat pada Tabel 5.3 dan Tabel 5.4 berikut.

Tabel 5.3 Hasil KLT Ester Kuersetin dengan Pengembang BAA

Zat	Rf	Warna noda dengan lampu UV	Jumlah noda
Kuersetin	0,90	ungu	satu
KB 12 jam	0,98	ungu	satu
KB 24 jam	0,97	ungu	satu
KB 36 jam	0,98	ungu	satu
KA 12 jam	0,95	ungu	satu
KA 24 jam	0,94	ungu	satu
KA 36 jam	0,95	ungu	satu

Tabel 5.4 Hasil KLT Ester Kuersetin dengan Pengembang Kloroform

Zat	Rf	Warna noda dengan lampu UV	Jumlah noda
Kuersetin	0	ungu	satu
KB 12 jam	0,86; 0,19	ungu; ungu	dua
KB 24 jam	0,85; 0,20	ungu; ungu	dua
KB 36 jam	0,85	ungu	satu
KA 12 jam	0,46; 0,08	ungu; ungu	dua
KA 24 jam	0,47; 0,09	ungu; ungu	dua
KA 36 jam	0,46	ungu	satu

Keterangan:

KB 12 jam : Kuersetin benzoat hasil sintesis dari kuersetin dengan metode Markham dan waktu reaksi 12 jam

KB 24 jam : Kuersetin benzoat hasil sintesis dari kuersetin dengan metode Markham dan waktu reaksi 24 jam

KB 36 jam : Kuersetin benzoat hasil sintesis dari kuersetin dengan metode Markham dan waktu reaksi 36 jam

KA 12 jam : Kuersetin asetat hasil sintesis dari kuersetin dengan metode Markham dengan pereaksi anhidrida asetat dan waktu reaksi 12 jam

KA 24 jam : Kuersetin asetat hasil sintesis dari kuersetin dengan metode Markham dengan pereaksi asetil klorida dan waktu reaksi 24 jam

KA 36 jam : Kuersetin asetat hasil sintesis dari kuersetin dengan metode Markham dengan pereaksi asetil klorida dan waktu reaksi 36 jam

BAA : Pengembang yang terdiri dari n-butanol, asam asetat, dan air dengan perbandingan 4 : 1 : 5

Hasil uji KLT dari ester kuersetin yang menghasilkan dua noda, karena Rf-nya berdekatan/hampir sama, maka kedua senyawa tersebut dicampur dan dilakukan uji KLT lagi untuk mengetahui apakah dua senyawa tersebut mempunyai Rf yang sama, artinya tetap diperoleh dua noda dalam KLT setelah pencampuran. Kedua campuran senyawa ester, yaitu KB 12 jam dan KB 24 jam serta KA 12 jam dan KA 24 jam dalam KLT tetap menghasilkan dua noda. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kedua senyawa tersebut, yaitu KB 12 jam dan KB 24 jam adalah senyawa yang sama, demikian juga halnya dengan KA 12 jam dan KA 24 jam adalah senyawa yang sama pula.

Langkah selanjutnya adalah melakukan pemurnian untuk kedua senyawa yang menghasilkan dua noda dalam KLT tersebut, yaitu dengan menggunakan kromatografi kolom. Kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak kloroform dan etanol dengan perbandingan volume 7 : 3; 6 : 4; 5 : 4; 4 : 5; metanol, dan metanol-air 1 : 1. Hasil kromatografi kolom diuji lagi dengan KLT dan memberikan satu noda. Hasil uji KLT ini dapat dilihat pada Tabel 5.5 berikut.

Tabel 5.5 Hasil KLT Ester Kuersetin dari Kromatografi Kolom dengan Pengembang Kloroform

Zat	Rf	Warna noda dengan lampu UV	Jumlah noda
KB 12 jam	0,85	ungu	satu
KB 24 jam	0,85	ungu	satu
KB 36 jam	0,85	ungu	satu
KA 12 jam	0,45	ungu	satu
KA 24 jam	0,45	ungu	satu
KA 36 jam	0,45	ungu	satu

5.1.1. Asetilasi Kuersetin

Hasil asetilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12 jam, berupa zat padat putih kekuningan dengan berat 0,31 gram. Uji titik lebur menunjukkan bahwa titik lebur zat padat ini berbeda dengan titik lebur kuersetin asalnya. Zat padat ini selanjutnya direkristalisasi dengan campuran etanol dan air. Hasil rekristalisasi ini adalah kristal jarum berwarna putih kekuningan dengan berat 0,12 gram. Kristal ini selanjutnya diuji dengan KLT untuk mengetahui kemurniannya. Uji KLT dengan pengembang kloroform menghasilkan dua noda dengan R_f = 0,46; 0,08. Hal ini menunjukkan bahwa kristal tersebut belum murni.

Hasil asetilasi kuersetin dengan waktu reaksi 24 jam berupa zat padat putih kekuningan dengan berat 0,59 gram. Uji titik lebur menunjukkan bahwa titik lebur zat padat ini berbeda dengan titik lebur kuersetin asalnya. Zat padat ini selanjutnya direkristalisasi dengan campuran etanol dan air. Hasil rekristalisasi ini adalah kristal berbentuk jarum berwarna putih kekuningan dengan berat 0,21 gram. Kristal ini selanjutnya diuji dengan KLT. Uji KLT dengan pengembang kloroform menghasilkan dua noda dengan R_f = 0,47; 0,09. Hal ini menunjukkan bahwa kristal tersebut belum murni.

Hasil asetilasi kuersetin dengan waktu reaksi 36 jam berupa zat padat putih kekuningan dengan berat 0,58 gram. Uji titik lebur menunjukkan bahwa titik lebur zat padat ini berbeda dengan titik lebur kuersetin asalnya. Zat padat ini selanjutnya direkristalisasi dengan campuran etanol dan air. Hasil rekristalisasi ini adalah kristal berbentuk jarum berwarna putih kekuningan dengan berat 0,21 gram. Kristal ini selanjutnya diuji dengan KLT. Uji KLT dengan pengembang kloroform menghasilkan satu noda dengan R_f = 0,46 yang menunjukkan bahwa kristal tersebut adalah senyawa tunggal (murni)

Uji KLT untuk kristal hasil asetilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12 jam dan 24 jam menunjukkan harga R_f yang hampir sama, maka disimpulkan bahwa kedua kristal tersebut adalah campuran senyawa yang identik. Uji KLT terhadap campuran kedua kristal tersebut menghasilkan dua noda dengan R_f = 0,46; 0,08.

Pemurnian kristal dilakukan dengan kromatografi kolom dengan absorben silika gel Q-12; 28 – 200 mesh. Elusi dilakukan dengan kloroform membentuk

dua pita. Pita pertama dipisahkan dengan mengelusinya dengan kloroform sampai pita pertama terpisah. Hasilnya diuapkan dan diperoleh kristal dengan titik lebur 141 – 142°C. Hasil KLT menunjukkan satu noda dengan R_f = 0,45. Pita kedua ini tetap berada pada bagian atas kolom. Pita kedua ini selanjutnya dielusi dengan eluen campuran kloroform dan metanol dengan perbandingan 7 : 3; 6 : 4; 5 : 5; 4 : 6, dan metanol. Elusi dengan eluen tersebut tidak menunjukkan adanya noda pada KLT. Elusi selanjutnya dilakukan dengan eluen campuran metanol-air dengan perbandingan 1 : 1. Elusi ini menunjukkan adanya noda pada KLT. Hasil elusi ini selanjutnya diuapkan dan diperoleh kristal berwarna putih, yang selanjutnya disebut **KA***.

Kristal hasil pemurnian dengan kromatografi kolom ini memiliki harga R_f yang identik dengan R_f kristal hasil asetilasi dengan waktu reaksi 36 jam. Dari harga R_f ini dapat disimpulkan bahwa ketiga kristal hasil asetilasi kuersetin ini identik. Hal ini dibuktikan dengan hasil KLT dari campuran ketiga kristal tersebut yang menghasilkan satu noda dengan R_f = 0,46. Ketiga kristal ini selanjutnya dicampur dan dilarutkan dalam kloroform dan kemudian diuapkan. Hasilnya adalah kristal jarum berwarna putih kekuningan yang selanjutnya disebut dengan senyawa **KA**.

Uji titik lebur senyawa KA menunjukkan bahwa titik leburnya adalah 141 – 142°C. Senyawa KA ini selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui struktur-nya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FT-IR, Spektrometer Reso-

nansi Magnet Inti, dan Spektrometer Massa. Senyawa **KA*** diidentifikasi dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrometer Massa.

5.1.2. Benzoilasi Kuersetin

Hasil benzoilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12 jam berupa zat padat putih kecoklatan dengan berat 4,93 gram. Uji titik lebur menunjukkan bahwa titik lebur zat padat ini berbeda dengan titik lebur kuersetin asalnya. Zat padat ini selanjutnya direkristalisasi dengan campuran aseton dan air. Hasil rekristalisasi ini adalah kristal jarum berwarna putih dengan berat 2,98 gram. Kristal ini selanjutnya diuji dengan KLT. Uji KLT dengan pengembang kloroform menghasilkan dua noda dengan R_f = 0,86; 0,19 yang menunjukkan bahwa kristal tersebut belum murni.

Hasil benzoilasi kuersetin dengan waktu reaksi 24 jam berupa zat padat putih kecoklatan dengan berat 5,24 gram. Uji titik lebur menunjukkan bahwa titik lebur zat padat ini berbeda dengan titik lebur kuersetin asalnya. Zat padat ini selanjutnya direkristalisasi dengan campuran aseton dan air. Hasil rekristalisasi ini adalah kristal jarum berwarna putih dengan berat 3,91 gram. Kristal ini selanjutnya diuji dengan KLT. Uji KLT dengan pengembang kloroform menghasilkan dua noda dengan R_f = 0,85; 0,20 yang menunjukkan bahwa kristal tersebut belum murni.

Hasil benzoilasi kuersetin dengan waktu reaksi 36 jam berupa zat padat putih dengan berat 5,16 gram. Uji titik lebur menunjukkan bahwa titik lebur zat

padat ini berbeda dengan titik lebur kuersetin asalnya. Zat padat ini selanjutnya direkristalisasi dengan campuran aseton dan air. Hasil rekristalisasi ini adalah kristal jarum berwarna putih dengan berat 3,75 gram. Kristal ini selanjutnya diuji dengan KLT. Uji KLT dengan pengembang kloroform menghasilkan satu noda dengan R_f = 0,85 yang menunjukkan bahwa kristal tersebut adalah senyawa tunggal (murni).

Uji KLT untuk kristal hasil benzoilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12 jam dan 24 jam menunjukkan harga R_f yang hampir sama. Dari harga R_f ini dapat disimpulkan bahwa kedua kristal tersebut adalah campuran senyawa yang identik. Uji KLT terhadap campuran kedua kristal tersebut menghasilkan dua noda dengan R_f = 0,85; 0,19.

Pemurnian kristal dilakukan dengan kromatografi kolom dengan absorben silika gel Q-12; 28 – 200 mesh. Elusi dilakukan dengan kloroform. Karena senyawanya tidak berwarna, maka selama elusi, eluat yang keluar ditampung dalam fraksi-fraksi dengan jumlah volume masing-masing 5 mL. Selanjutnya masing-masing fraksi diuji dengan KLT. Fraksi-fraksi yang menunjukkan satu noda dan mempunyai harga R_f yang sama dikumpulkan dan diuapkan. Penampungan eluat ini dilakukan sampai diperoleh eluat yang pada uji KLT tidak menghasilkan noda. Hasil kromatografi kolom ini adalah kristal jarum berwarna putih dengan titik lebur 101 – 102°C. Hasil KLT menunjukkan satu noda dengan R_f = 0,85. Elusi dilanjutkan dengan menggunakan eluen campuran kloroform dan metanol dengan perbandingan 7 : 3; 6 : 4; 5 : 5; 4 : 6, dan metanol. Elusi dengan eluen tersebut

tidak menunjukkan adanya noda pada KLT. Elusi selanjutnya dilakukan dengan eluen campuran metanol-air dengan perbandingan 1 : 1. Elusi ini menunjukkan adanya noda pada KLT. Hasil elusi ini selanjutnya diuapkan dan diperoleh kristal berwarna putih yang selanjutnya disebut **KB***.

Kristal hasil pemurnian dengan kromatografi kolom ini memiliki harga R_f yang identik dengan R_f kristal hasil benzoilasi dengan waktu reaksi 36 jam. Dari harga R_f ini dapat disimpulkan bahwa ketiga kristal hasil benzoilasi kuersetin ini adalah senyawa yang identik. Hal ini dibuktikan dengan hasil KLT dari campuran ketiga kristal tersebut yang menghasilkan satu noda dengan R_f = 0,85. Ketiga kristal ini selanjutnya dicampur dan dilarutkan dalam kloroform dan kemudian diuapkan. Hasilnya adalah kristal jarum berwarna putih yang selanjutnya disebut dengan senyawa **KB**.

Uji titik lebur senyawa KB menunjukkan bahwa titik leburnya adalah 101 – 102°C. Senyawa KB ini selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui struk-turnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FT-IR, Spektrometer Resonansi Magnet Inti, dan Spektrometer Massa. Identifikasi senyawa **KB*** dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, Spektrometer Massa.

5.2. Analisis Hasil Penelitian

5.2.1. Analisis Hasil Asilasi dengan Spektrofotometri Infra Merah

Analisis hasil asilasi dengan spektrofotometri infra merah ini dilakukan pada senyawa kuersetin sebagai pembanding, senyawa KA, dan KB. Spektrum

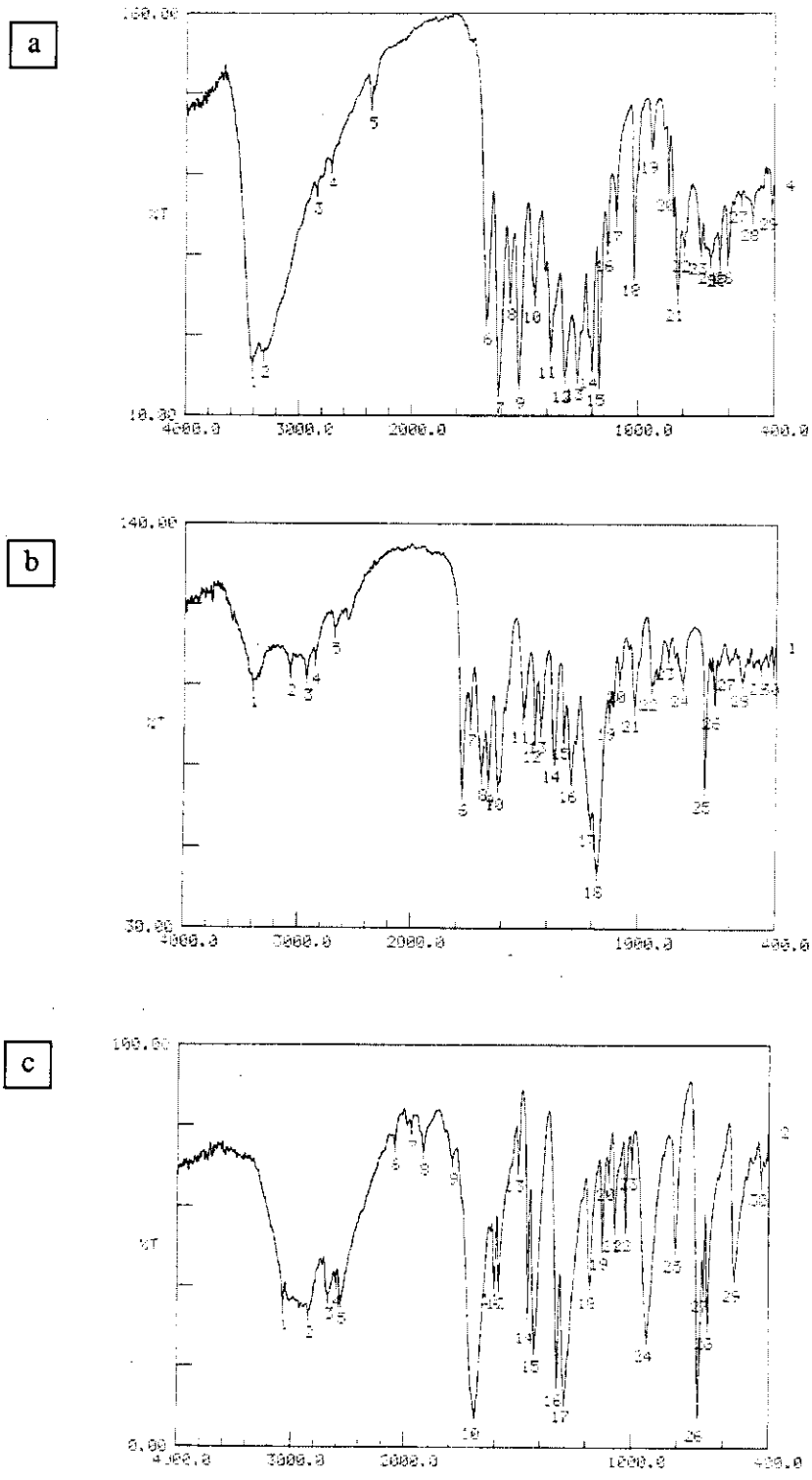
infra merah untuk kuersetin, KA, dan KB dapat dilihat pada Gambar 5.1. Vibrasi gugus-gugus yang terdapat pada spektrum infra merah dari kuersetin, KA, dan KB dapat dilihat pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6. Vibrasi Gugus-gugus yang Terdapat pada Spektrum Infra Merah dari Kuersetin, KA, dan KB

Vibrasi Gugus	Bilangan Gelombang (cm^{-1})		
	Kuersetin	KA	KB
OH			
-Regang OH	3408,52 (1), k	3398,88 (1), s	3070,95(1), s
C-O dan C=O			
-Regang C-O	1263,49(13), k	1207,55 (17), s	1180,54(18), s
-Regang C-O-C-ester	-	1178,61 (18), k	1292,42(17), k
-Regang C=O (α,β tidak jenuh cincin 6)	1666,65(6), k	1687,87(8), k	1687,87(10), k
-Regang C=O ester	-	1774,67(6), k	1687,87(10), k
C-C dan C=C			
-Regang C-C aromatik	1521,97(9), k	1504,61(11), s	1581,77(12), s
-Regang C=C	1612,64(7), k	1658,93(9), s	1687,87(10), s
C-H			
-Regang C-H aromatik	3308,22(2), k	3072,88(2), s	2849,12(2), s
-Lentur C-H aromatik:			
Satu H	864,19(20), s	871,90(23), l	933,09(24), s
Dua H berdampingan	823,68(21), s	806,32(24), s	806,32(25), s
Lima H berdampingan	-	-	707,94(26), k
Lentur CH_3		1454,46(12), s	

5.2.2. Analisis Hasil Asilasi dengan Spektrometri Resonansi Magnet Inti (RMI)

Analisis hasil asilasi dengan spektrometri Resonansi Magnet Inti ini dilakukan baik dengan spektrometri RMI-^{1}H maupun dengan spektrometri RMI-^{13}C.



Gambar 5.1 Spektrum IR dari Kuersetin (a), KA (b), dan KB (c) dengan Pembawa KBr

5.2.2.1. Spektrometri RMI-^{1}H

Spektrum RMI-^{1}H untuk senyawa KA dan KB dapat dilihat pada Gambar 5.2. Berdasarkan data pada Lampiran 1 – 8 geseran kimia (δ) untuk proton pada senyawa KA dan KB dapat dilihat pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7 Geseran Kimia Proton pada Senyawa Kuersetin, KA, dan KB

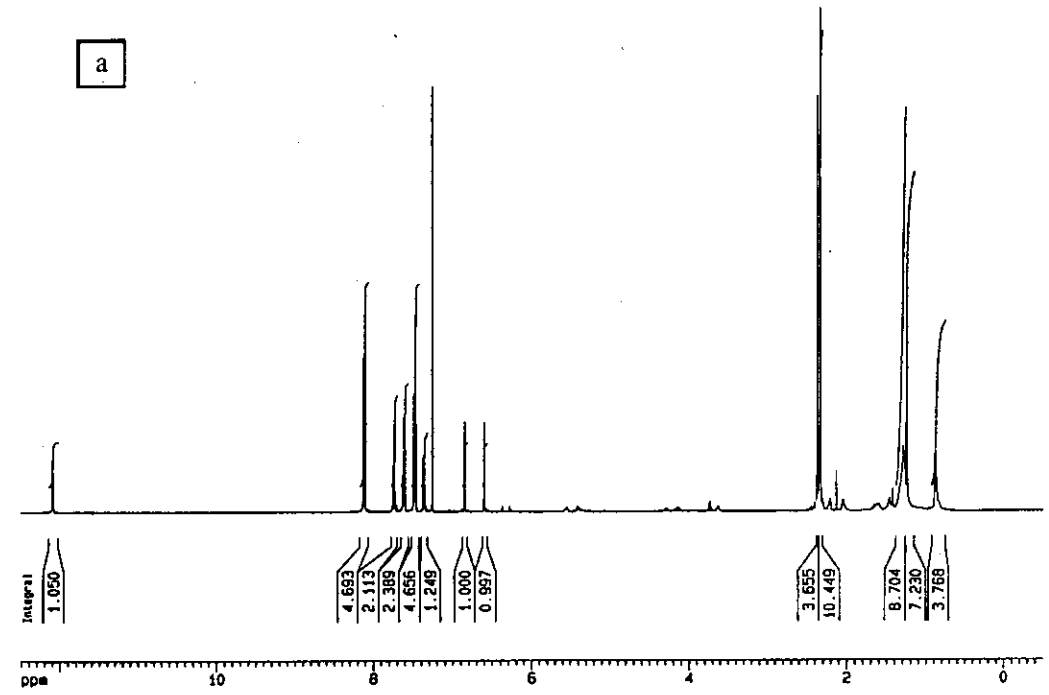
Jenis Proton	Geseran Kimia (δ) Proton (dalam ppm) untuk Senyawa:		
	Kuersetin (Batterham dan Highet)	KA	KB
H-6	6,28 (1H,d, *J*=2,0 Hz)	6,85 (1H,d, *J*=2,02 Hz)	7,19 (1H,d, *J*=2,21 Hz)
H-8	6,52 (1H,d, *J*=2,0 Hz)	6,60 (1H,d, *J*=2,02 Hz)	7,20 (1H,d, *J*=2,21 Hz)
H-2^1	7,78 (1H,d, *J*=2,0 Hz)	7,73 (1H,d, *J*=2,03 Hz)	7,93 (1H,d, *J*=2,17 Hz)
H-5^1	7,01 (1H,d, *J*=2,0 Hz)	7,75 (1H,d, *J*=8,18 Hz)	7,92 (1H,d, *J*=8,65 Hz)
H-6^1	7,68 (1H,d, *J*=2,0 Hz)	7,74 (1H,d, *J*=8,08 Hz)	7,93 (1H,d, *J*=8,65 Hz)
H pada OH-3	9,40 (1H, s)	12,10 (1H, s)	8,26 (1H, s)
H pada OH-5	12,40 (1H, s)	(12,10 (1H, s)	-
H pada OH-7	10,93 (1H, s)	-	-
H pada OH-3^1	9,05 (1H, s)	-	-
H pada OH-4^1	9,08 (1H, s)	-	-
H pd CH_3-C=O	-	2,39 – 2,13	-
H pd C_6H_5-C=O	-	-	8,25 – 8,00 dan 7,67 – 7,35

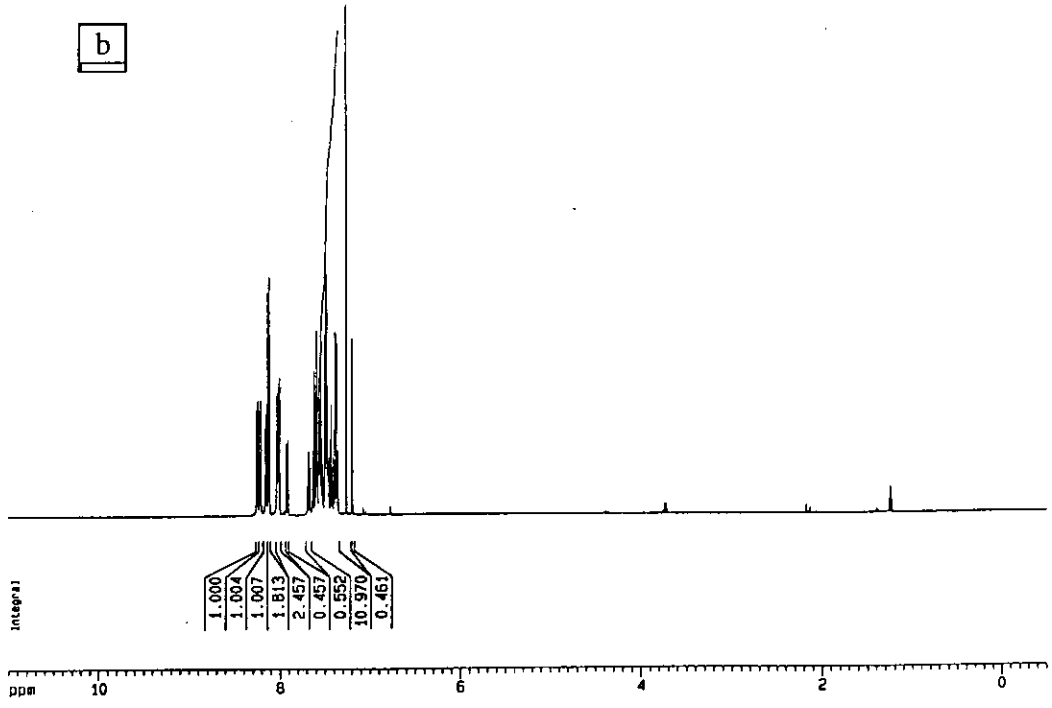
5.2.2.2. Spektrometri RMI-^{13}C

Spektrum RMI-^{13}C senyawa KA dan KB dapat dilihat pada Gambar 5.3. Berdasarkan data pada Lampiran 9 – 14 geseran kimia untuk karbon pada senyawa KA dan KB dapat dilihat pada Tabel 5.8 berikut.

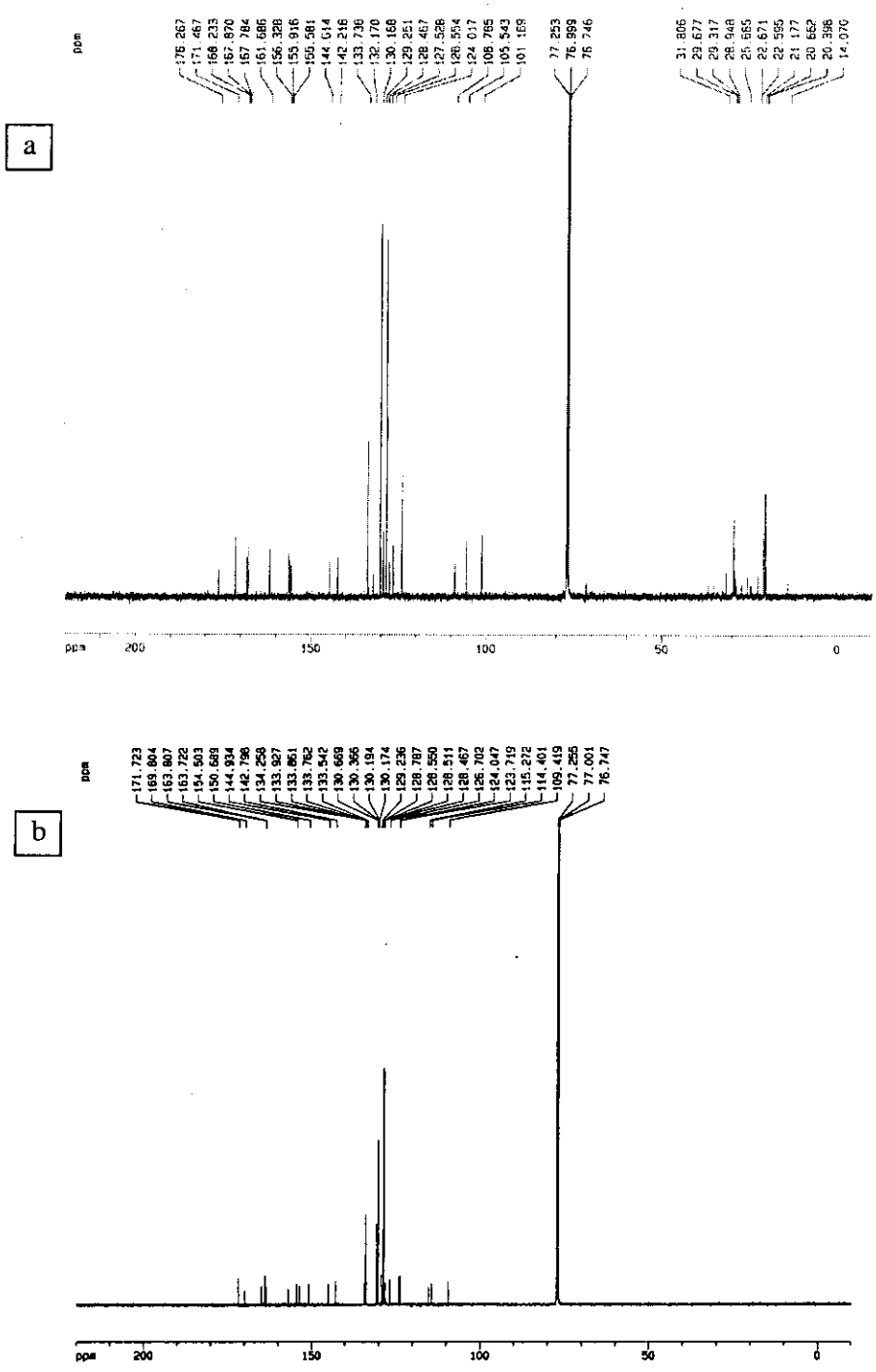
Tabel 5.8 Geseran Kimia untuk Karbon pada Senyawa Kuersetin, KA, dan KB

Jenis Karbon	Geseran Kimia untuk Karbon (dalam ppm) pada Senyawa:		
	Kuersetin (Hildebert Wagner)	KA	KB
C-2	146,90	144,61	142,80
C-3	135,80	133,73	134,26
C-4	175,80	176,27	171,72
C-5	156,20	156,32	154,50
C-6	98,30	105,54	114,40
C-7	164,00	168,23	169,80
C-8	93,50	101,17	109,42
C-9	160,80	161,67	153,62
C-10	103,10	108,79	115,27
C-1'	122,10	129,25	128,02
C-2'	115,20	124,02	123,72
C-3'	145,10	155,91	144,93
C-4'	147,70	155,58	150,69
C-5'	115,70	126,55	124,05
C-6'	120,10	127,52	126,70
C pada CH_3 dari $CH_3-\underset{\vert}{C}=O$	-	20,40 – 21,20	-
C pada $-\underset{\underset{O}{\Vert}}{C}-$ dari $CH_3-\underset{\vert}{C}=O$	-	171,46	-
C pada $-\underset{\underset{O}{\Vert}}{C}-$ dari $\varnothing-\underset{\underset{O}{\Vert}}{C}-$	-	-	163,46 – 164,90
C pada $\varnothing$	-	-	128,80 – 133,93





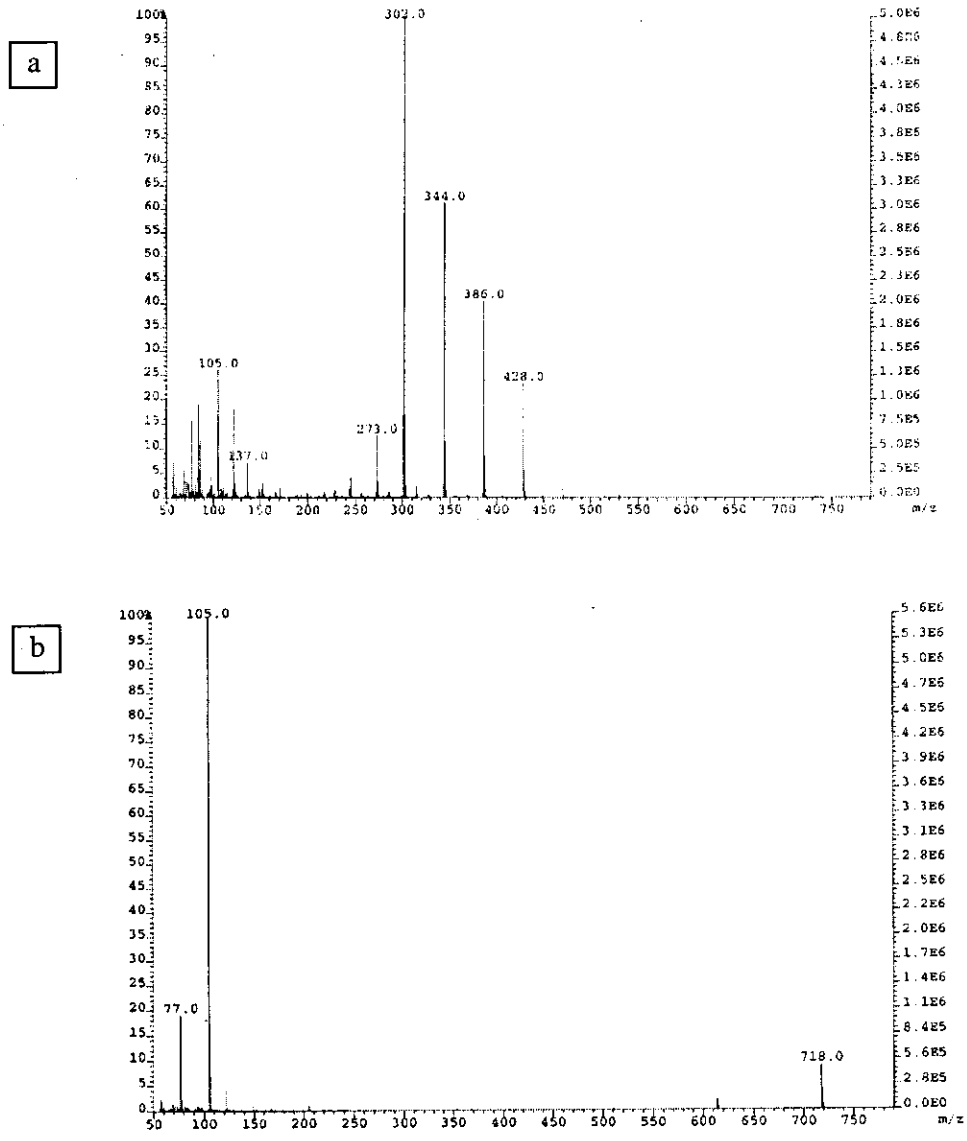
Gambar 5.2 Spektrum RMI-^{1}H KA (a), dan KB (b) dalam Pelarut $CDCl_3$



Gambar 5.3 Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA (a) dan KB (b) dalam Pelarut $CDCl_3$

5.2.3. Analisis Hasil Asilasi dengan Spektrometri Massa

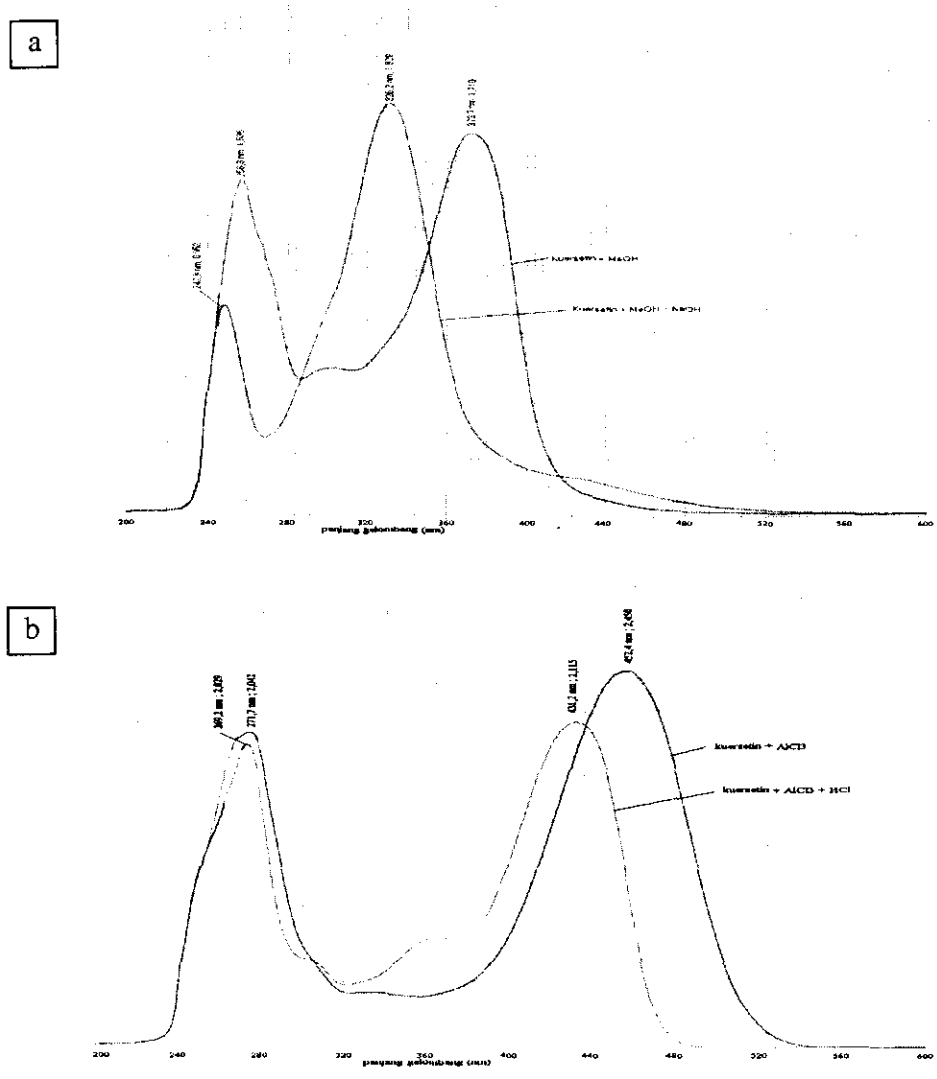
Analisis hasil asilasi dengan spektrometri massa dilakukan pada senyawa KA, KB, KA* dan KB*. Spektrum Massa untuk senyawa KA dan KB tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.4, sedangkan spektrum massa untuk senyawa KA* dan KB* dapat dilihat pada Lampiran 15.



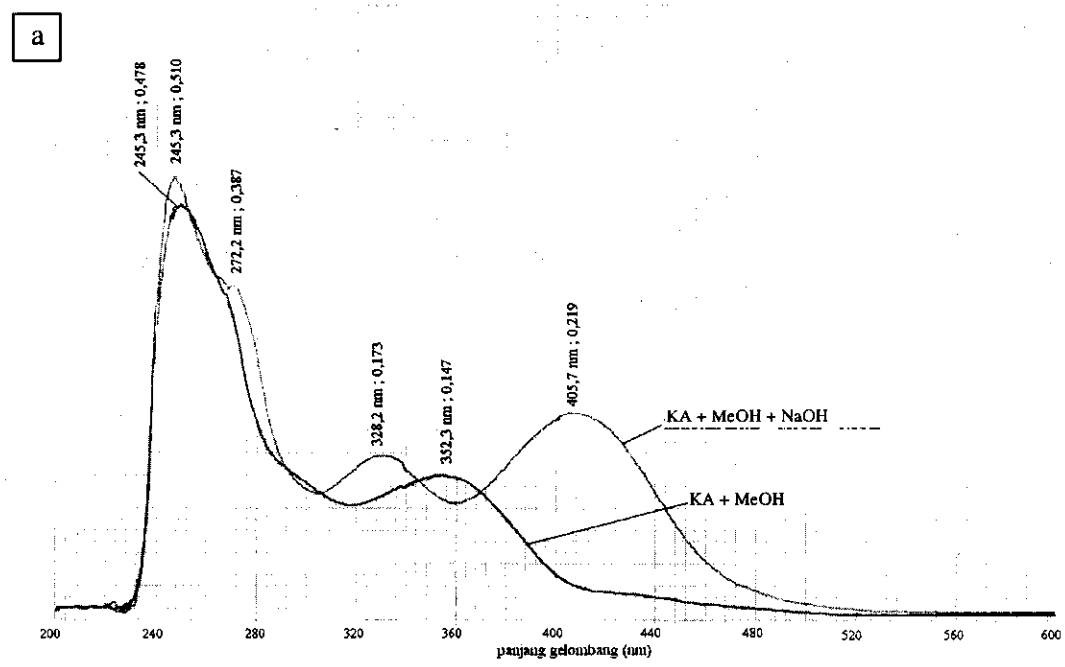
Gambar 5.4 Spektrum Massa Senyawa KA (a) dan KB (b)

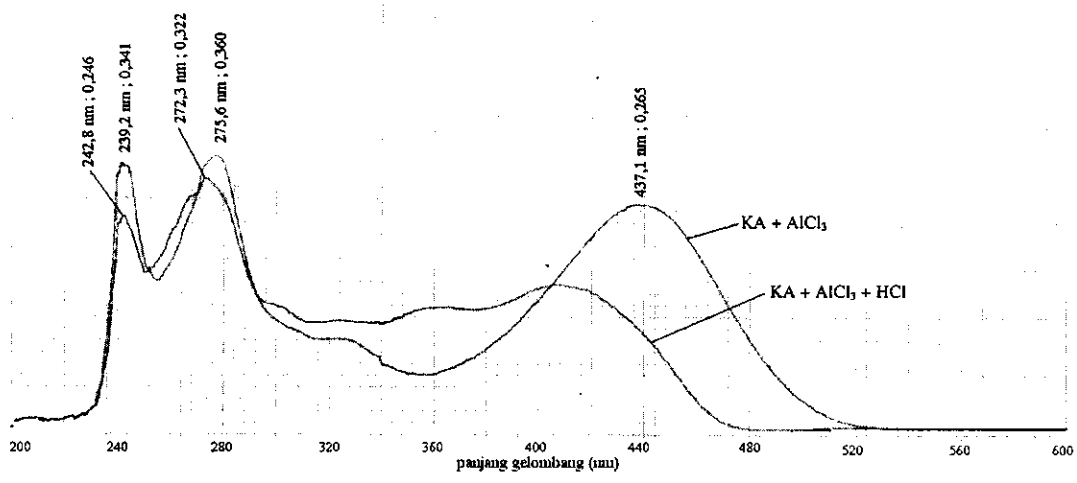
5.2.4 Analisis Hasil Asilasi dengan Spektrofotometri UV-VIS

Analisis hasil asilasi dengan spektrofotometri UV-VIS ini dilakukan pada senyawa kuersetin, KA, KB, KA* dan KB*. Spektrum UV-Vis senyawa kuersetin, KA, dan KB tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.6, Gambar 5.7, Gambar 5.8, sedangkan spektrum UV-VIS senyawa KA* dan KB* dapat dilihat pada Lampiran 16 dan 17.

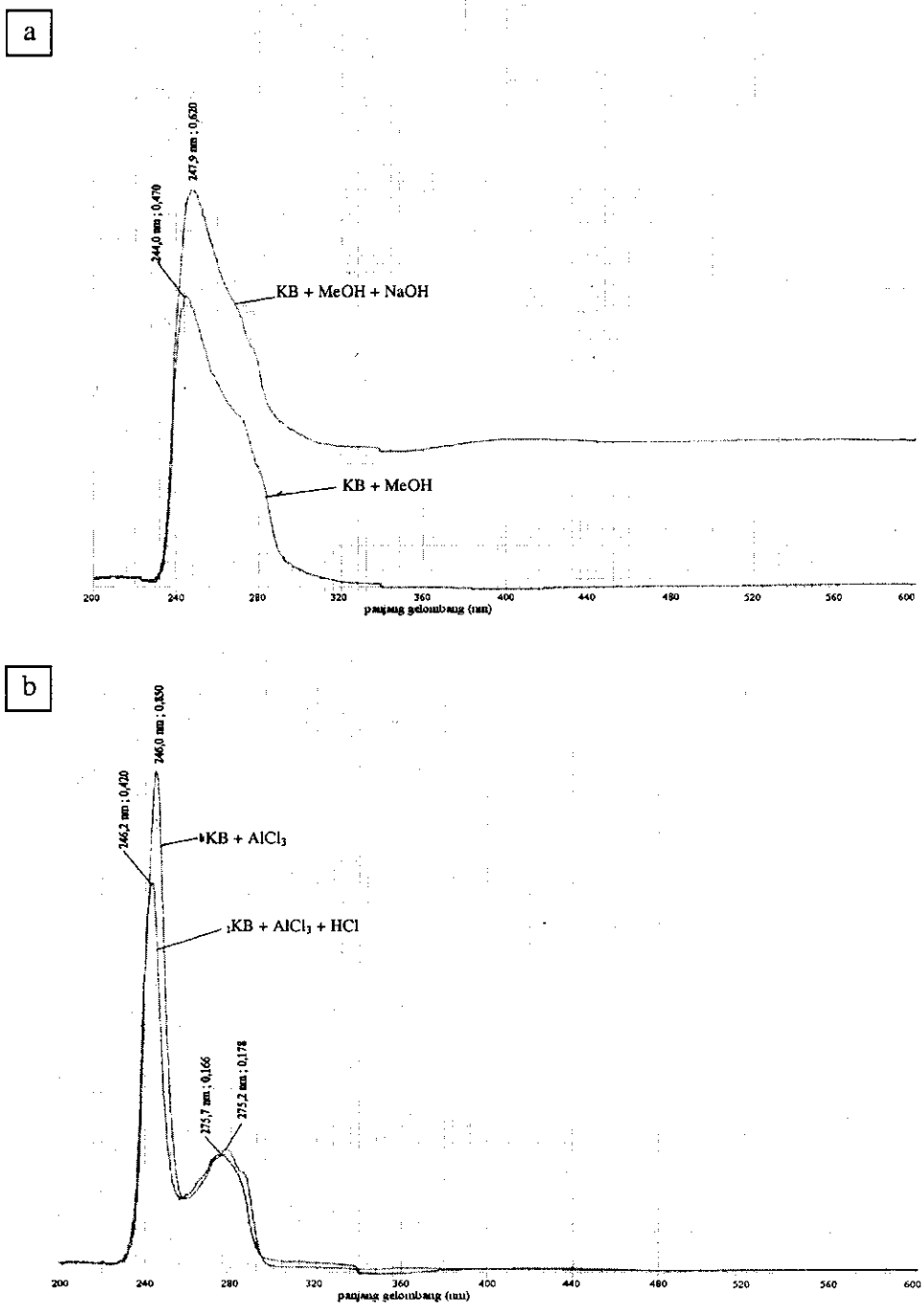


Gambar 5.5 Spektrum UV-VIS Senyawa Kuersetin + MeOH; Kuersetin + MeOH + NaOH (a) dan Kuersetin + $AlCl_3$; Kuersetin + $AlCl_3$ + HCl (b)





Gambar 5.6 Spektrum UV-VIS Senyawa KA + MeOH; KA + MeOH + NaOH (a) dan KA + $AlCl_3$; KA + $AlCl_3$ + HCl (b)



Gambar 5.7 Spektrum UV-VIS Senyawa KB + MeOH; KB + MeOH + NaOH (a) dan KB + $AlCl_3$; KB + $AlCl_3$ + HCl (b)

Panjang gelombang (λ) maksimal dan pergeseran λ maksimal pada berbagai pereaksi dari senyawa kuersetin, KA, dan KB dapat dilihat pada Tabel 5.9, Tabel 5.10, dan Tabel 5.11 berikut.

Tabel 5.9 Panjang Gelombang dan Pergeseran λ Maksimal dari Kuersetin pada Berbagai Pereaksi

Pereaksi	λ maksimal		Pergeseran λ maksimal		Interpretasi
	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pita I (nm)	Pita II (nm)	
MeOH	373,7	256,8	-	-	Flavonol (3-OH bebas)
MeOH + NaOH	326,2; 320,0	242,8	- 47,5	- 14	4'-OH; 7-OH
MeOH + $AlCl_3$	452,4	271,7	-	-	-
MeOH+$AlCl_3$/HCl	431,2	269,2	- 21,2	- 2,5	o-di-OH

Tabel 5.10 Panjang Gelombang dan Pergeseran λ Maksimal dari KA pada Berbagai Pereaksi

Pereaksi	λ maksimal		Pergeseran λ maksimal		Interpretasi
	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pita I (nm)	Pita II (nm)	
MeOH	352,3	245,3	-	-	-
MeOH + NaOH	405,7; 328,2	272,2; 245,3	+ 53,4	-	3-OH; tidak ada 4'-OH bebas
MeOH + $AlCl_3$	437,1	273,6; 242,8	-	-	-
MeOH+$AlCl_3$/HCl		272,3; 239,2		- 1; - 3	tidak ada o-di-OH

Tabel 5.11 Panjang Gelombang dan Pergeseran λ Maksimal dari KB pada Berbagai Pereaksi

Pereaksi	λ maksimal		Pergeseran λ maksimal		Interpretasi
	Pita I (nm)	Pita II (nm)	Pita I (nm)	Pita II (nm)	
MeOH	-	244,0	-	-	-
MeOH + NaOH	-	247,9	-	+ 3,9	tidak ada OH pada cincin A
MeOH + $AlCl_3$	-	275,2; 246,0	-	-	-
MeOH+$AlCl_3$/HCl	-	275,7; 246,2	-	+ 0,5; 0,2	tidak ada o-di-OH

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Asetilasi Kuersetin

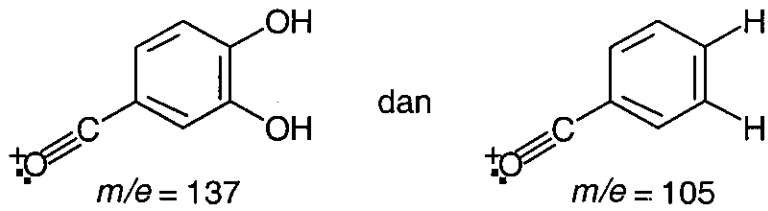
Hasil asetilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12 jam, 24 jam, dan 36 jam memberikan hasil yang sama, yaitu senyawa KA berupa kristal berbentuk jarum berwarna putih kekuningan dengan titik lebur 141 – 142°C. Hasil KLT dari kristal ini memberikan satu noda dengan *Rf* = 0,46.

Hasil analisis dengan spektrofotometri infra merah menghasilkan spektrum seperti yang terlihat pada Gambar 5.1 dan vibrasi gugus-gugusnya dapat dilihat pada Tabel 5.6. Spektrum infra merah senyawa KA seperti terlihat pada Gambar 5.1 tersebut menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang 3398,88 cm^{-1} yang merupakan serapan yang khas untuk vibrasi regang gugus –OH. Pita serapan ini membuktikan bahwa pada senyawa KA masih terdapat gugus –OH. Pita serapan pada bilangan gelombang 1774,67 cm^{-1} merupakan serapan yang khas untuk gugus C=O (ester), sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1178,61 cm^{-1} merupakan serapan yang khas untuk vibrasi regang C–O–C ester. Pita serapan pada bilangan gelombang 1454,46 cm^{-1} merupakan serapan yang khas untuk vibrasi lentur CH_3. Dari pita-pita serapan yang merupakan serapan khas untuk gugus –OH, C=O ester, C–O–C ester, dan CH_3 tersebut dapat disimpulkan bahwa

pada senyawa KA masih mengandung gugus –OH yang tidak tersubstitusi oleh gugus asetil, dan gugus asetil yang mensubstitusi pada gugus –OH.

Hasil analisis dengan spektrometri massa secara tabrakan elektron memberikan spektrum seperti yang terlihat pada Gambar 5.4. Spektrum tersebut menunjukkan adanya puncak ion molekul (M^+) 428 dengan puncak dasar pada 302. Puncak ion molekul pada M^+ 302 ini sesuai dengan massa molekul relatif untuk kuersetin. Puncak ion molekul kuersetin bertindak sebagai puncak dasar, menggambarkan bahwa kuersetin stabil. Adanya puncak ion molekul pada M^+ 428 ini menunjukkan bahwa massa molekul relatif senyawa KA lebih besar 126 satuan massa daripada massa molekul relatif kuersetin (M^+ 302). Perbedaan 126 satuan massa ini setara dengan penambahan 3 gugus asetil (CH_3–C=O) dan pengurangan 3 atom H. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pada asetilasi kuersetin terjadi substitusi 3 atom H pada gugus –OH dari kuersetim oleh 3 gugus asetil (CH_3–C=O).

Puncak ion molekul pada *m/e* 386 sesuai dengan massa molekul relatif kuersetin diasetat, puncak ion molekul pada *m/e* 344 sesuai dengan massa molekul relatif dari kuersetin monoasetat. Puncak ion molekul pada *m/e* 273 sesuai dengan massa molekul relatif kuersetin yang kehilangan molekul CHO, sedangkan massa molekul pada *m/e* 137 dan 105 sesuai dengan massa molekul relatif hasil fragmentasi dari kuersetin, yaitu:



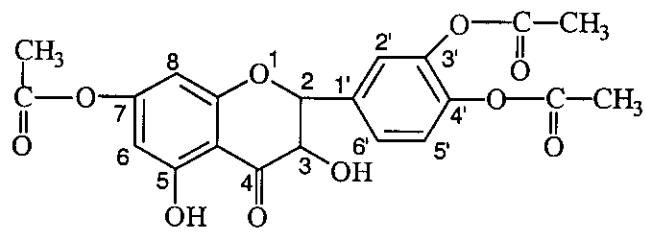
Hasil analisis dengan spektrofotometri RMI-^{1}H, menghasilkan spektrum yang tertera pada Gambar 5.2, dan geseran kimia proton tercantum pada Tabel 5.7. Spektrum resonansi magnet inti proton (RMI-^{1}H) dalam pelarut deutrokloroform ($CDCl_3$) senyawa KA (Gambar 5.2) menunjukkan adanya geseran kimia (ppm) dari proton-proton sebagai berikut: 6,85 (1H, d, J = 2,02 Hz; H–6); 6,60 (1H, d, J = 2,02 Hz; H–8); 7,73 (1H, d, J = 2,03 Hz; H–2'); 7,75 (1H, d, J = 8,18 Hz; H–5'); 7,74 (1H, d, J = 2,02 Hz; H–6'). Adanya sinyal pada geseran kimia 12,10 (2H, S) menunjukkan geseran kimia untuk 2 buah proton pada OH, yaitu OH-5 dan OH-3. Geseran kimia 2,13 – 2,39 adalah geseran kimia untuk proton pada CH_3CO.

Hasil analisis dengan spektrometri RMI-^{13}C menghasilkan spektrum seperti yang tertera pada Gambar 5.3 dengan geseran kimia karbon tercantum pada Tabel 5.8. Spektrum resonansi magnet inti karbon (RMI-^{13}C) menunjukkan adanya geseran kimia (ppm) yang khas dari karbon-karbon sebagai berikut: 144,61 (C-2); 133,73 (C-3); 176,27 (C-4); 156,32 (C-5); 105,54 (C-6); 168,23 (C-7) yang tersubstitusi oleh gugus asetil); 101,17 (C-8); 161,67 (C-9); 108,79 (C-10); 129,25 (C-1'); 124,02 (C-2'); 155,91 (C-3' yang tersubstitusi oleh gugus asetil); 155,58 (C-4' yang tersubstitusi oleh gugus asetil); 126,55 (C-5'); 127,52 (C-6').

Adanya sinyal pada geseran kimia 20,40; 20,66; 21,18 masing-masing untuk C pada CH_3 dari gugus asetil dan sinyal pada geseran kimia 171,46 adalah geseran kimia untuk C pada –C=O dari gugus asetil.

Analisis dengan spektrofotometri UV-VIS menghasilkan spektrum yang tertera pada Gambar 5.6. Spektrum tersebut menunjukkan adanya geseran λ maksimal dari pita I sebesar 53,4 nm pada penambahan NaOH, yang berarti bahwa pada senyawa KA terdapat gugus –OH pada pada C-3 dan tidak ada OH bebas pada C-4'. Terjadinya penurunan λ maksimal pada pita I sebesar 25 nm pada penambahan $AlCl_3$/HCl menunjukkan tidak adanya dua gugus –OH pada posisi orto.

Dari data-data spektroskopi yang telah diuraikan tersebut, yaitu spektrum IR, spektrum massa, spektrum RMI-^{1}H, spektrum RMI-^{13}C, dan spektrum UV-VIS untuk senyawa KA, dapat disimpulkan bahwa struktur senyawa KA adalah:



Dengan demikian senyawa KA adalah kuersetin-7, 3', 4'-triasetat.

Dari data spektroskopis senyawa KA*, yaitu spektrum UV-Vis yang menunjukkan tidak adanya pergeseran puncak dan spektrum massa yang menunjukkan bahwa tidak ada puncak dasar pada 302 (untuk Mr. kuersetin). Dengan demikian senyawa KA* belum dapat diidentifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa

pada asetilasi kuersetin yang berpengaruh pada hasil reaksi adalah kestabilan hasil antara dan efek orto-para dengan efek orto-para lebih berpengaruh daripada kestabilan hasil antara.

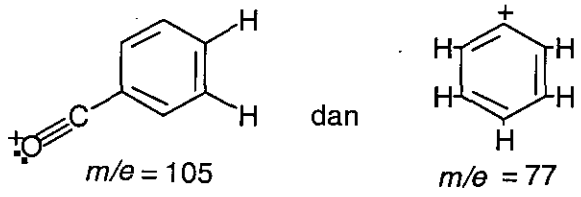
6.2. Benzoilasi Kuersetin

Hasil benzoilasi kuersetin dengan waktu reaksi 12 jam, 24 jam, dan 36 jam menghasilkan senyawa yang sama, yaitu senyawa KB yang berbentuk kristal jarum warna putih dengan titik lebur 101 – 102°C. Hasil KLT pada kristal tersebut memberikan satu noda dengan *Rf* = 0,85.

Hasil analisis dengan spektrofotometri infra merah menghasilkan spektrum seperti yang terlihat pada Gambar 5.1 dengan vibrasi gugus-gugus yang tercantum pada Tabel 5.6. Spektrum infra merah senyawa KB ini menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang 3070,95 cm^{-1} yang merupakan serapan yang khas untuk vibrasi regang gugus –OH. Pita serapan ini menunjukkan bahwa pada senyawa KB masih mengandung gugus –OH bebas. Pita serapan pada bilangan gelombang 1687,87 cm^{-1} merupakan serapan yang khas untuk gugus C=O ester, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1292,42 cm^{-1} adalah serapan yang khas untuk gugus C–O–C ester. Pita serapan pada bilangan gelombang 707,94 cm^{-1} adalah serapan yang khas untuk vibrasi lentur C–H aromatik dengan lima atom H berdampingan. Dari pita-pita serapan yang merupakan serapan yang khas untuk gugus –OH, C=O ester, C–O–C ester dan C–H aromatik dengan lima atom H berdampingan ini, dapat disimpulkan bahwa pada senyawa KB terdapat gugus

–OH yang tidak tersubstitusi oleh gugus benzoil, dan terdapat gugus benzoil yang mensubstitusi atom H dari gugus OH pada kuersetin.

Hasil analisis dengan spektrometri massa secara tabrakan elektron menghasilkan spektrum seperti yang terlihat pada Gambar 5.4. Spektrum tersebut menunjukkan adanya ion molekul (M^+) 718,0. Hal ini menunjukkan bahwa masa molekul relatif senyawa KB lebih besar 416 satuan massa daripada massa molekul kuersetin (302). Perbedaan 416 satuan massa ini setara dengan penambahan 4 buah gugus benzoil C_6H_5–C=O (420) dengan pengurangan 4 buah atom H (4) dari kuersetin. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pada benzoilasi kuersetin terjadi substitusi 4 buah atom H dari gugus –OH pada kuersetin oleh 4 buah gugus benzoil (C_6H_5–C=O). Puncak ion molekul pada *m/e* 105 dan 77 sesuai dengan massa molekul relatif dari molekul hasil fragmentasi kuersetin, yaitu:



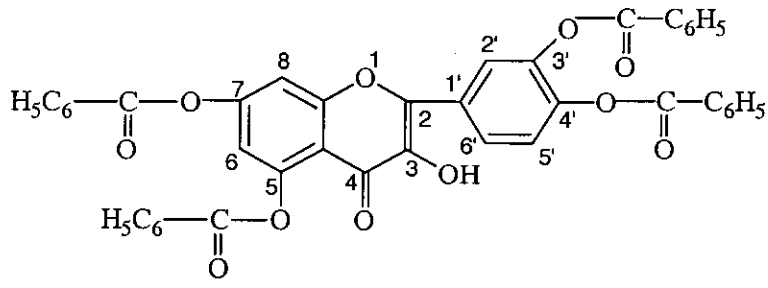
Hasil analisis dengan spektrometri resonansi magnet inti proton (RMI-^{1}H) menghasilkan spektrum seperti yang terlihat pada Gambar 5.2. Geseran kimia proton yang terdapat pada senyawa KB tercantum pada Tabel 5.7. Spektrum resonansi magnet inti proton (RMI-^{1}H) dalam pelarut deutrokloroform ($CDCl_3$) dari senyawa KB (Gambar 5.2) menunjukkan adanya geseran kimia dari proton-proton sebagai berikut: 7,19 (1H, d, J = 2,21 Hz; H–6); 7,20 (1H, d, J = 2,21 Hz; H–8); 7,93 (1H, d, J = 2,17 Hz; H–2'); 7,92 (1H, d, J = 8,65 Hz; H–5'); 7,93 (1H,

d, J = 8,65 Hz; H–6'); 8,26 (1H, S) untuk proton pada OH-3. Geseran kimia 8,00 – 8,25 dan 7,35 – 7,65 adalah geseran kimia untuk proton pada C_6H_5 dari C_6H_5–C=O.

Hasil analisis dengan spektrometri resonansi magnet inti karbon (RMI-^{13}C) menghasilkan spektrum yang tertera pada Gambar 5.3, dengan geseran kimia karbon yang tercantum pada Tabel 5.8. Spektrum resonansi magnet inti karbon (RMI-^{13}C) tersebut menunjukkan adanya geseran kimia (ppm) yang khas dari karbon-karbon berikut: 142,80 (C-2); 134,25 (C-3); 171,72 (C-4); 154,50 (C-5 yang tersubstitusi oleh gugus benzoil); 114,40 (C-6); 169,80 (C-7 yang tersubstitusi oleh gugus benzoil); 109,42 (C-8); 153,62 (C-9); 115,27 (C-10); 128,02 (C-1'); 123,72(C-2'); 144,93 (C-3'); 150,69 (C-4' yang tersubstitusi oleh gugus benzoil); 124,05 (C-5'); 126,70 (C-6'). Adanya sinyal pada geseran kimia 163,46 – 163,72; 163,906 dan 164,90, masing-masing untuk C pada –C=O dari C_6H_5–C=O dan sinyal pada 128,80 – 133,93 adalah sinyal untuk C pada C_6H_5 dari C_6H_5–C=O (gugus benzoil).

Analisis dengan spektrofotometri UV-VIS menghasilkan spektrum yang tertera pada Gambar 5.8. Spektrum UV-VIS tersebut menunjukkan adanya geseran λ maksimal pada pita II sebesar +3,9 nm pada penambahan NaOH. Hal ini menunjukkan bahwa pada senyawa KB tidak mengandung gugus –OH pada cincin A. Pada penambahan $AlCl_3$/ HCl terjadi pergeseran λ maksimal pada pita II sebesar 0,5 nm. Hal ini menunjukkan tidak adanya dua gugus –OH pada posisi orto.

Dari data-data spektroskopi yang telah diuraikan tersebut, yaitu spektrum IR, spektrum massa, spektrum RMI-^{1}H, spektrum RMI-^{13}C, dan spektrum UV-VIS dari senyawa KB dapat disimpulkan bahwa struktur senyawa KB adalah:



Dengan demikian senyawa KB adalah senyawa kuersetin-5, 7, 3', 4'-tetrabenzoat.

Dari data spektroskopis untuk senyawa KB*, yaitu spektrum UV-Vis yang menunjukkan tidak adanya pergeseran puncak dan spektrum massa yang menunjukkan bahwa tidak ada puncak dasar pada 302 (untuk Mr. kuersetin). Dengan demikian senyawa KB* belum dapat diidentifikasi. Hal ini menunjukkan bahwa pada benzoilasi kuersetin yang berpengaruh pada hasil reaksi adalah kestabilan hasil antara.

6.3. Asilasi Kuersetin

Pada asilasi kuersetin waktu reaksi berpengaruh terhadap hasil asilasi, yaitu waktu reaksi 24 jam diperoleh hasil asilasi yang lebih besar daripada 12 jam dan 36 jam. Hal ini disebabkan karena untuk waktu reaksi 36 jam, kemungkinan telah terjadi penguraian hasil asilasi. Hal ini terbukti dari hasil asilasi dengan waktu 36 jam diperoleh senyawa murni, sedangkan asilasi dengan waktu 12 jam dan 24 jam hasilnya belum murni.

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

1. Pada asetilasi kuersetin dihasilkan kristal kuersetin asetat dengan substitusi tiga atom H dari 3 gugus –OH pada kuersetin oleh gugus asetil, yaitu gugus –OH pada C-7; C-3', dan C-4'.
2. Pada benzoilasi kuersetin dihasilkan kristal kuersetin benzoat dengan substitusi 4 atom H dari 4 gugus –OH pada kuersetin oleh gugus benzoil, yaitu gugus –OH pada C-5; C-7; C-3'; dan C-4'.
3. Pada asilasi kuersetin waktu reaksi berpengaruh terhadap hasil asilasi, yaitu waktu reaksi 24 jam lebih besar daripada waktu reaksi 12 jam dan 36 jam.

7.2. Saran

Pada pembuatan turunan ester kuersetin dengan reaksi asilasi disarankan untuk melakukan reaksi selama 36 jam agar diperoleh senyawa tunggal (murni). Hasil penelitian ini dapat dipakai sebagai pijakan bagi peneliti lain yang berminat di bidang yang sama untuk mencari metode, waktu reaksi, dan pereaksi yang dapat memberikan hasil yang berbeda.

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

DAFTAR PUSTAKA

Arot LOM dan Williams LAD. 1997. A Flavonol Glycoside from Embelia Schimperi Leaves. *Phytochemistry*, 44: 1397 – 1398.

Batterham TJ, Highet RJ. 1964. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Flavonoids. *Aust. J. Chem.* 17: 428-439.

Cabrera JL dan Juliani HR. 1979. Two New Quercetin Sulphates from Leaves of Flaveria Bidentis. *Phytochemistry,* 18: 510 – 511.

Creswell CJ, Runguist OA, Campbell MM. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik.* Alih Bahasa oleh Kosasih Padma Winata. Bandung: ITB.

Engelkeimer DW, Geissman TA, Crowell WR, dan Friess SL. 1947. Flavanones and Related Compounds. IV. The Reduction of Some Naturally Accuring Flavones at Dropping Mercury Electrode. *Journal of American Chemical Society*, 69:155-159.

Fessenden RJ dan Fessenden JS. 1990. *Organik Chemistry.* California: Brooks /Cole Publishing Company.

Finar IL. 1973. *Organic Chemistry*, Vol. 2. 6th ed. London: Longman Group Limited.

Fraser AW, Lewis JR. 1973. Two Flavonols From Euodia Glabra. *Phytochemistry*. 12: 1787-1789.

Gde. Nyoman Astika. 2001. *Sintesis Bahan Obat yang Bertumpu kepada Keanekaragaman Bahan Alam.* Pidato Peresmian Penerimaan Jabatan Guru Besar dalam Bidang Ilmu Kimia Sintesis pada Fakultas Farmasi UNAIR di Surabaya 24 Pebruari 2001.

Guthrie JD, O'connor RT, Stansbury MF, dan Savich TR. 1944. Isolation of Quercitrin and Quercetin form Goldenrod Material. *Journal of American Chemical Society. 66: 1794-1795.*

Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Edisi Kedua. Bandung: ITB.

Jurd L. 1958. Selective Alkylation of the 7-Hydroxyl Group in Polyhydroxy Flavones. *Journal of American Chemical Society.* 80: 5531-5536.

Kulanthaivel P dan Benn MH. 1986. A New Truxillate and Some Flavonoid Esters from the Leaf Gum of Traversia Baccharoides. *Canadian Journal Chemistry.* 64: 514-519.

March J. 1977. *Advanced Organic Chemistry. Reaction, Mechanisms and Structure.* London: Mc Graw-Hill International Book Company.

Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Bandung: ITB.

M. Mulya dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental.* Surabaya: Airlangga University Press.

Noerdin Dasli. 1985. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik dengan Cara Spektroskopi Ultra Lembayung dan Infra Merah.* Bandung: Angkasa.

Rossi M, Rickles LF, Halpin WA. 1986. The Crystal and Molecular Structure of Quercetin. A Biologically Active and Naturally Occurring Flavonoid. *Bioorganic Chemistry. 14: 55-69.*

Silverstein RM, Bassler GC, Morrill TC. 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds.* Fifth Edition. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Siswandono dan Bambang Soekardjo. 1995. *Kimia Medisinal.* Surabaya: Airlangga University Press.

Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan.* Jogyakarta: Penerbit Kanisius.

Sutrisno. 2000. Aktivitas Parikizin dan Turunannya terhadap Pertumbuhan Sel Leukemia L^{1210}. *Disertasi*. Bandung: ITB.

Wagner H, Charl VM, Sonnenbichler J. 1976. ^{13}C-NMR-Spektren Naturlich Vorkomender Flavonoide. *Tetrahedron Letters*, 21:1799-1802.

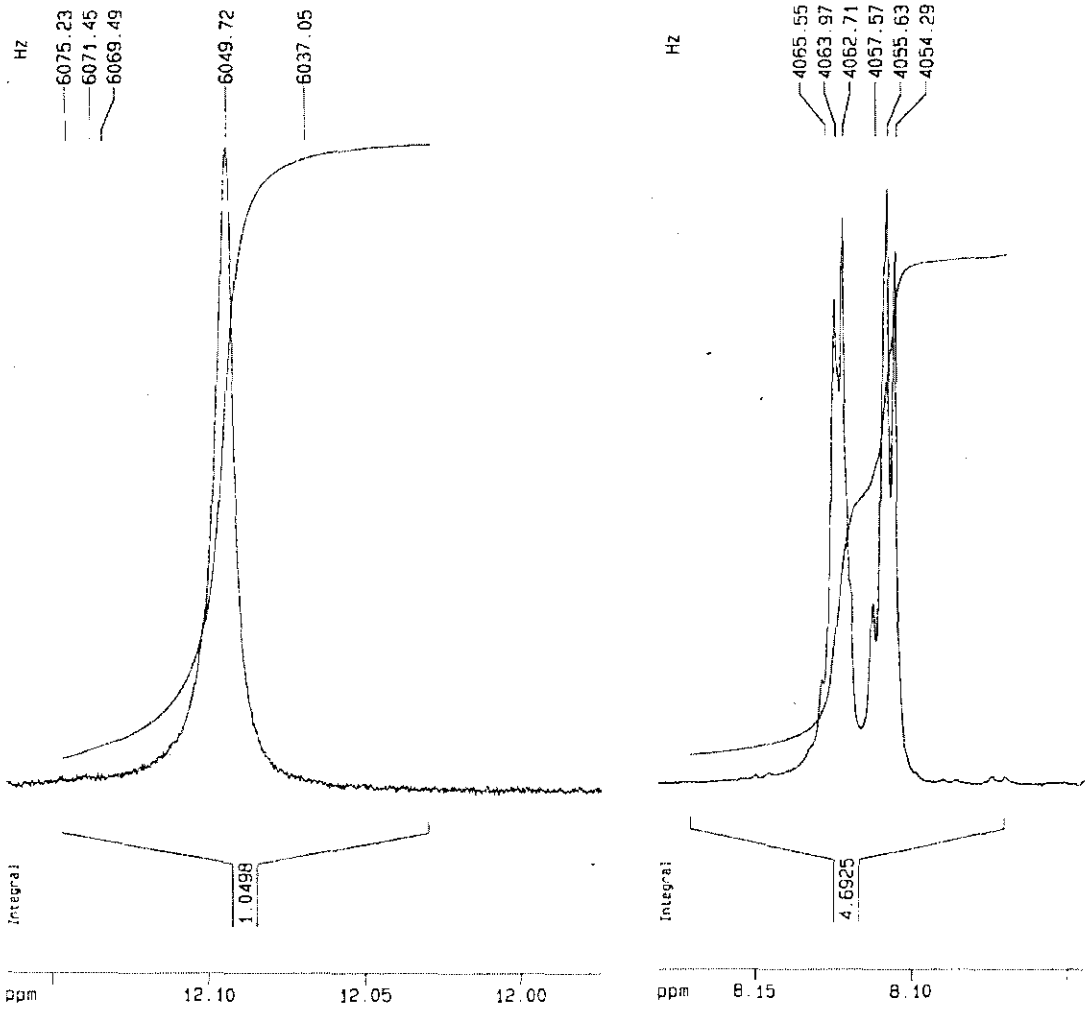
Wasilah AS. 1978. Penuntun Percobaan Pengantar Kimia Organik. Bandung: PT. Karya Nusantara.

Watson ER, Sen KB. 1914. Dyes Derived from Quercetin. *J.Chem. Soc.* 389-395.

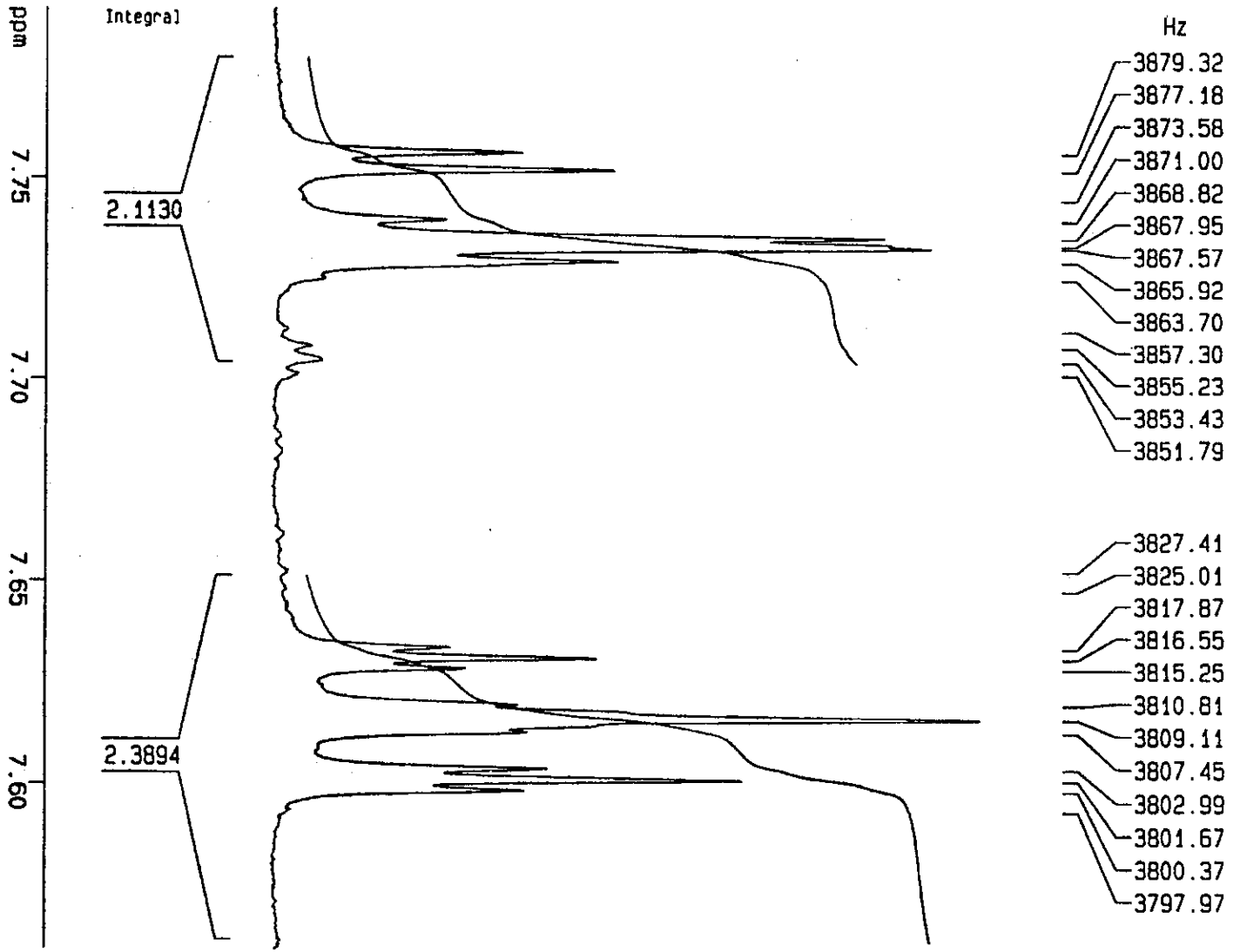
Zhu Jin G, Yamagata Y, Tomita KI. 1990. Structure of Quercetin Dihydrate. Acta Cryst. C 46: 310-313.

ADLN - Perpustakaan Universitas Airlangga

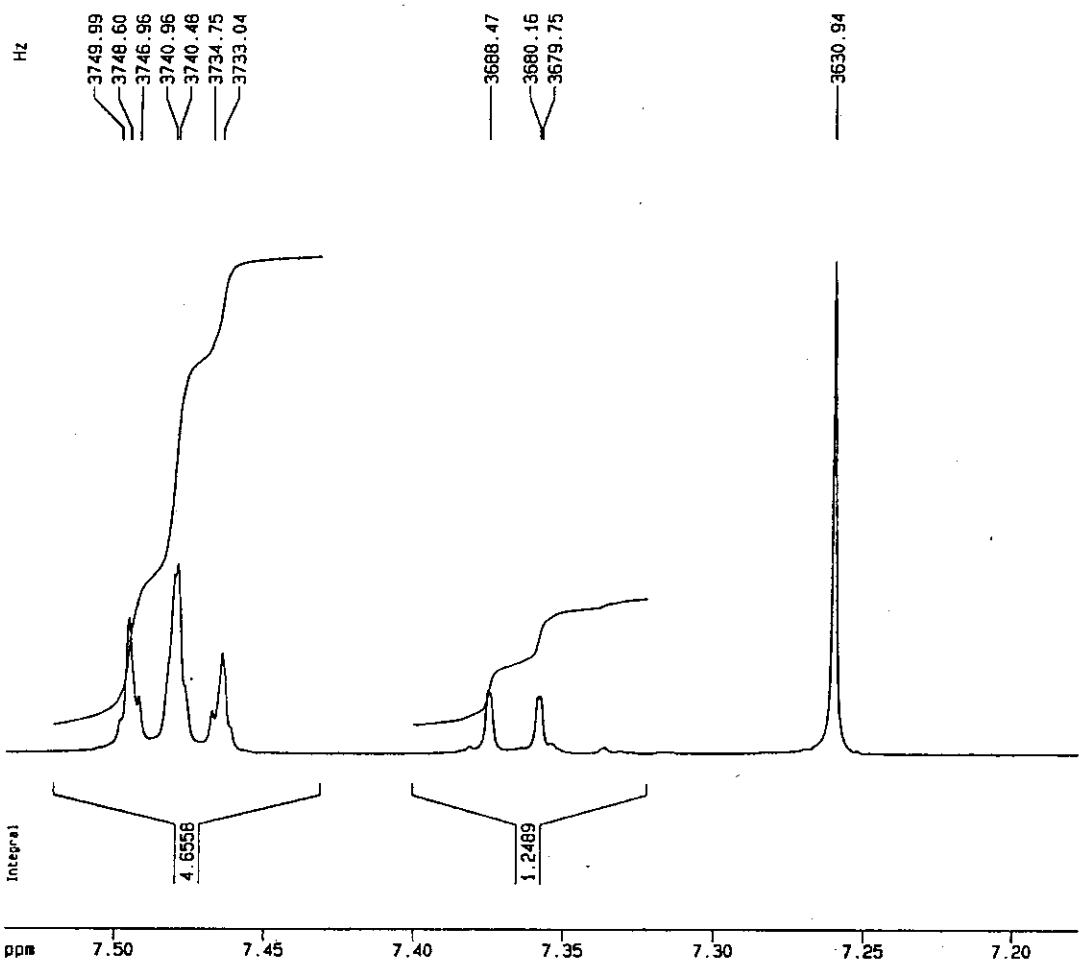
Lampiran 1: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 12,10 – 8,10 ppm dalam Pelarut $CDCl_2$



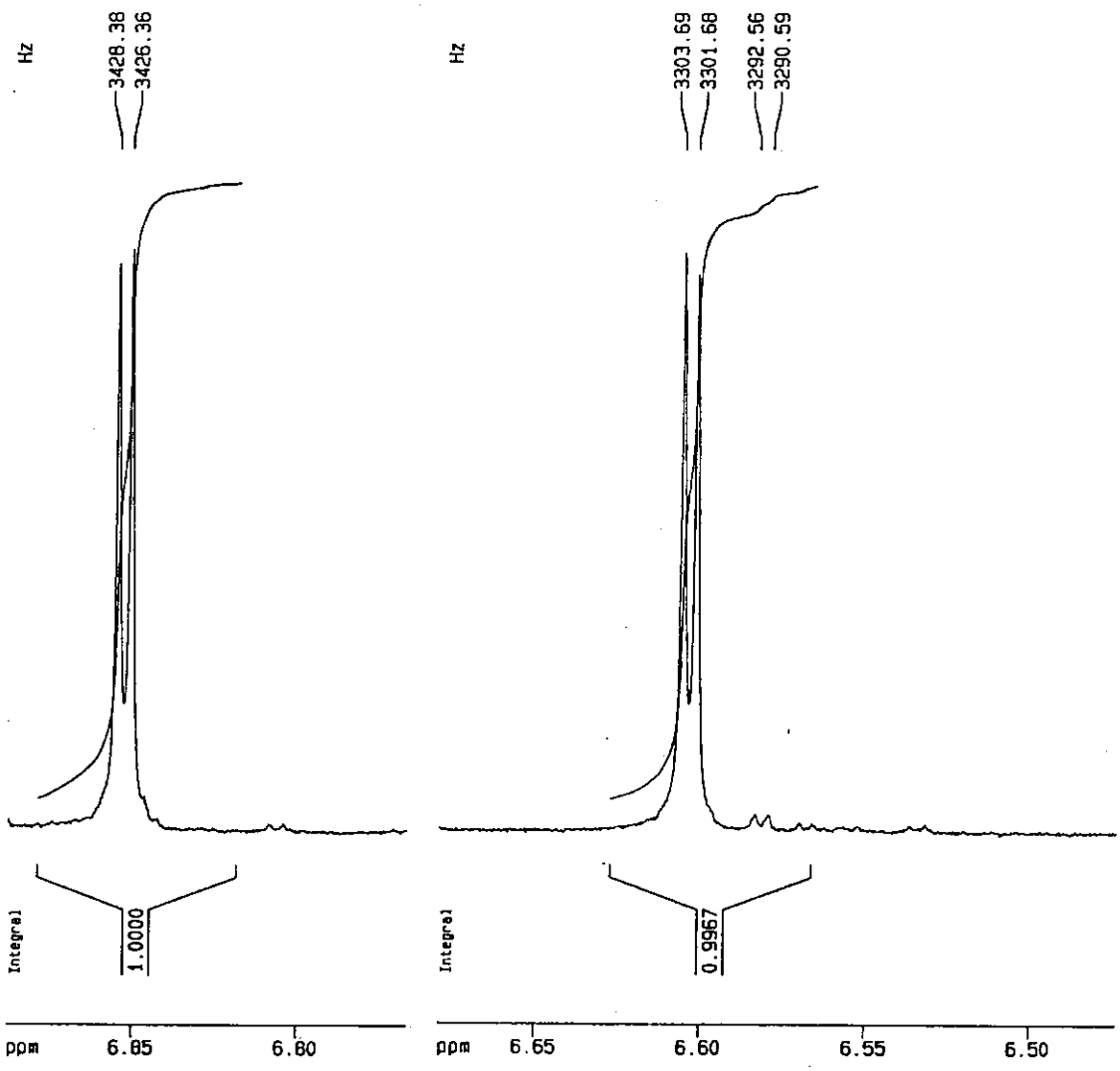
Lampiran 2: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 7,75 – 7,60 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



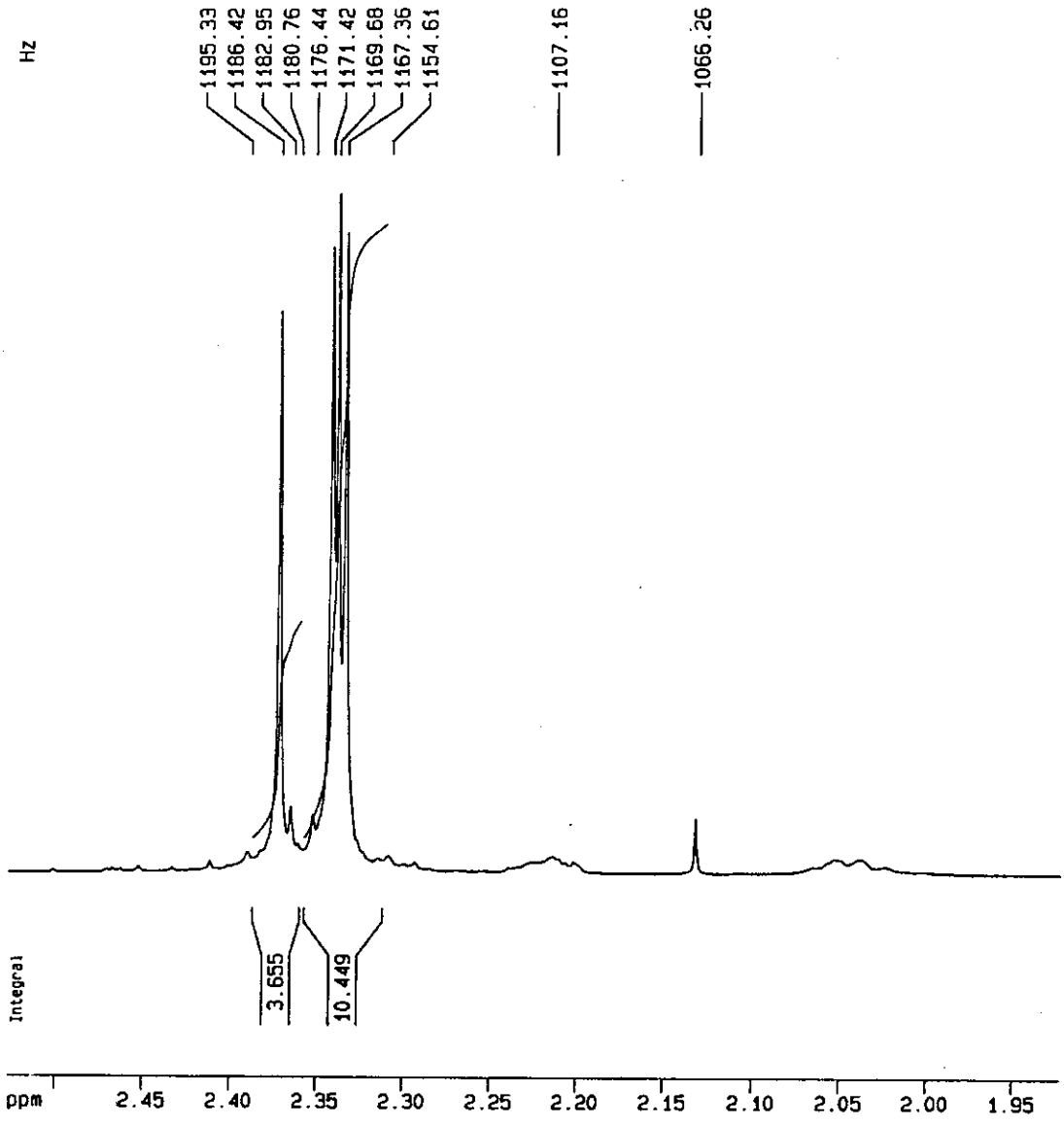
Lampiran 3: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 7,50 – 7,20 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



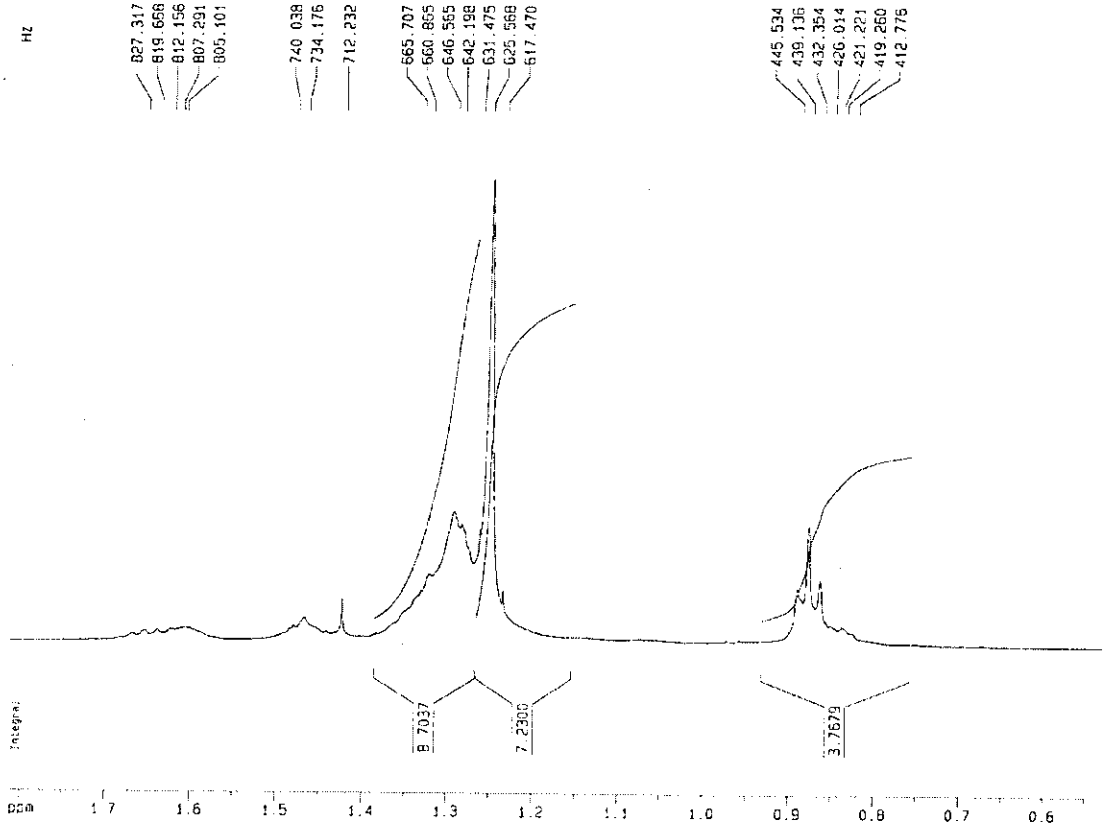
Lampiran 4: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 6,85 – 6,50 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



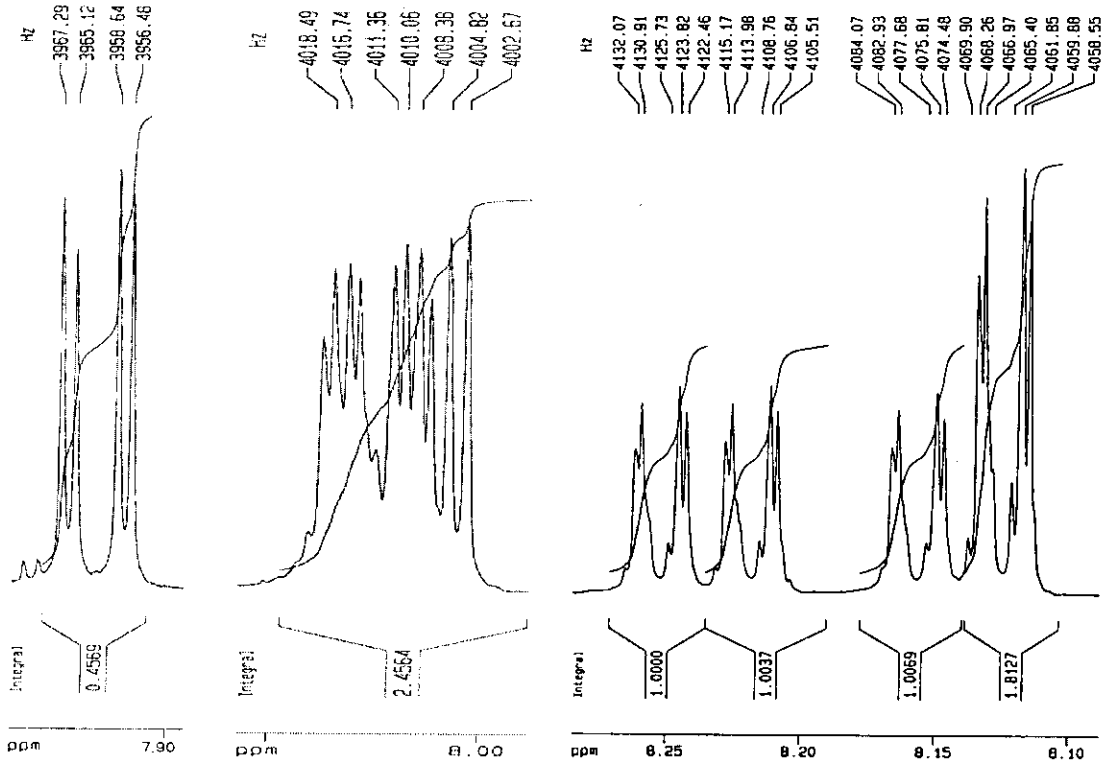
Lampiran 5: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 2,45 – 1,95 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



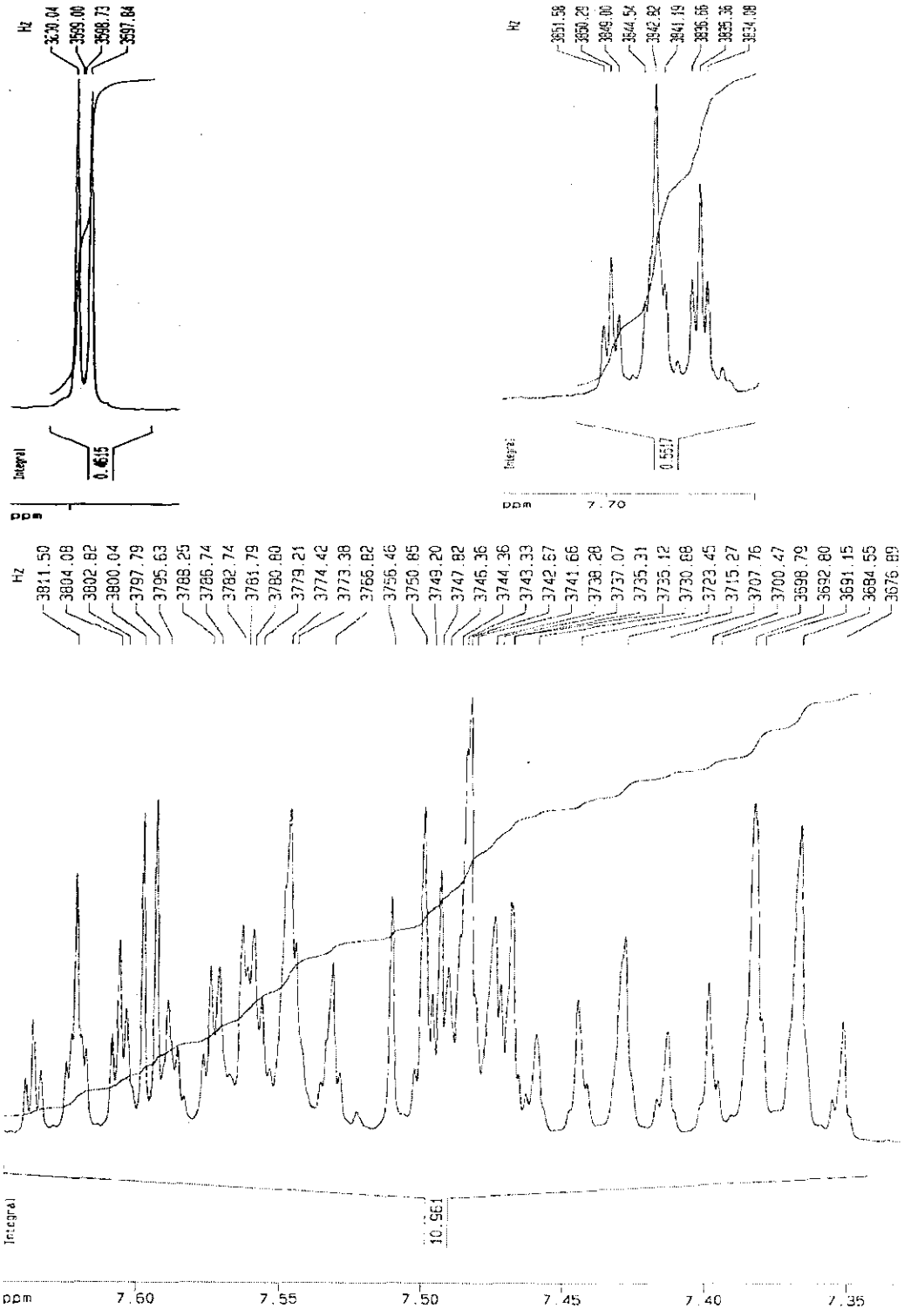
Lampiran 6: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KA pada Geseran Kimia 1,7 – 0,6 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



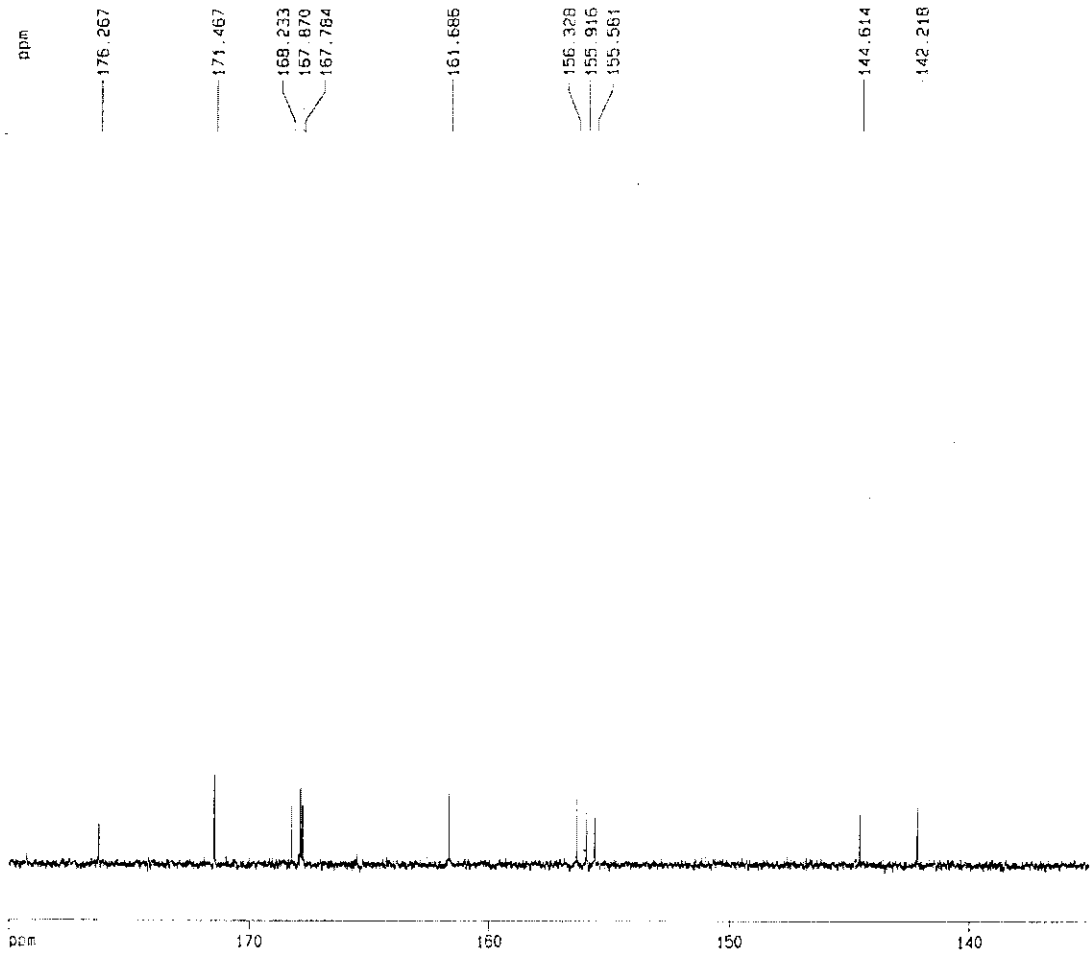
Lampiran 7: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KB pada Geseran Kimia 8,25 – 7,90 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



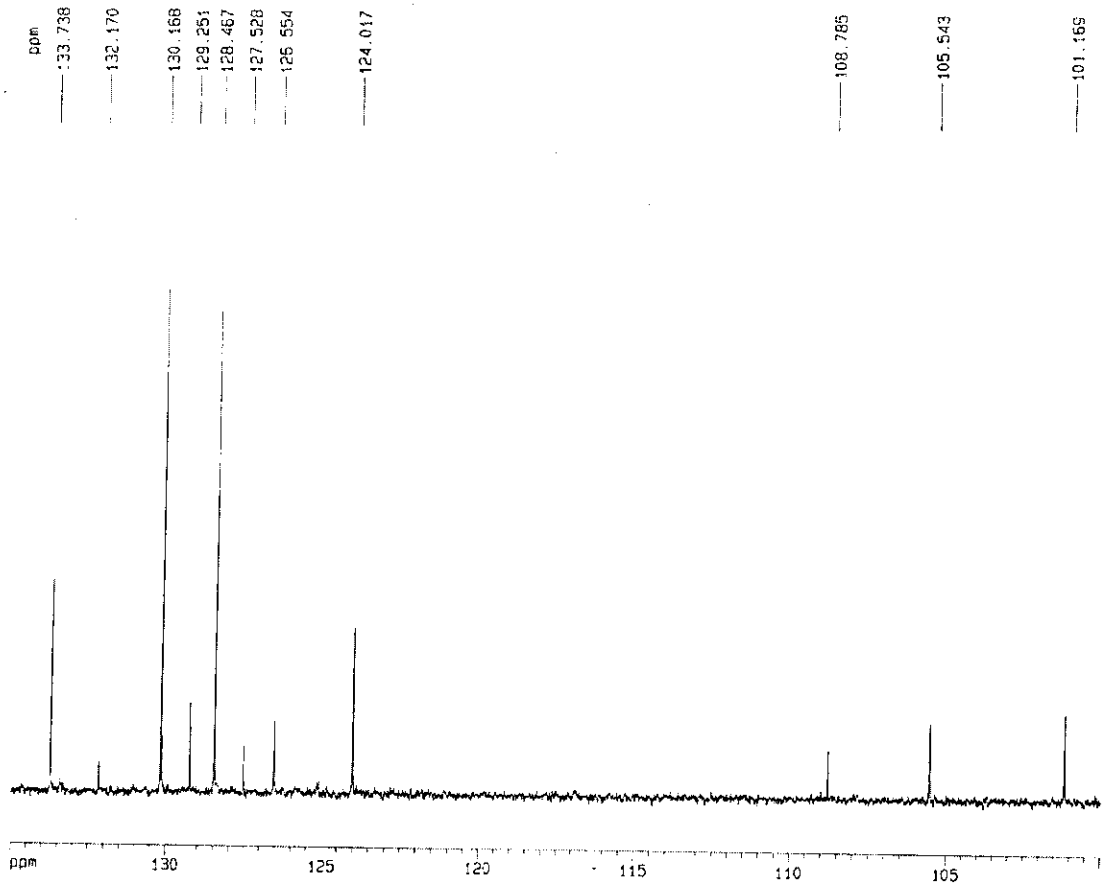
Lampiran 8: Spektrum RMI-^{1}H Senyawa KB pada Geseran Kimia 7,70 – 7,35 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



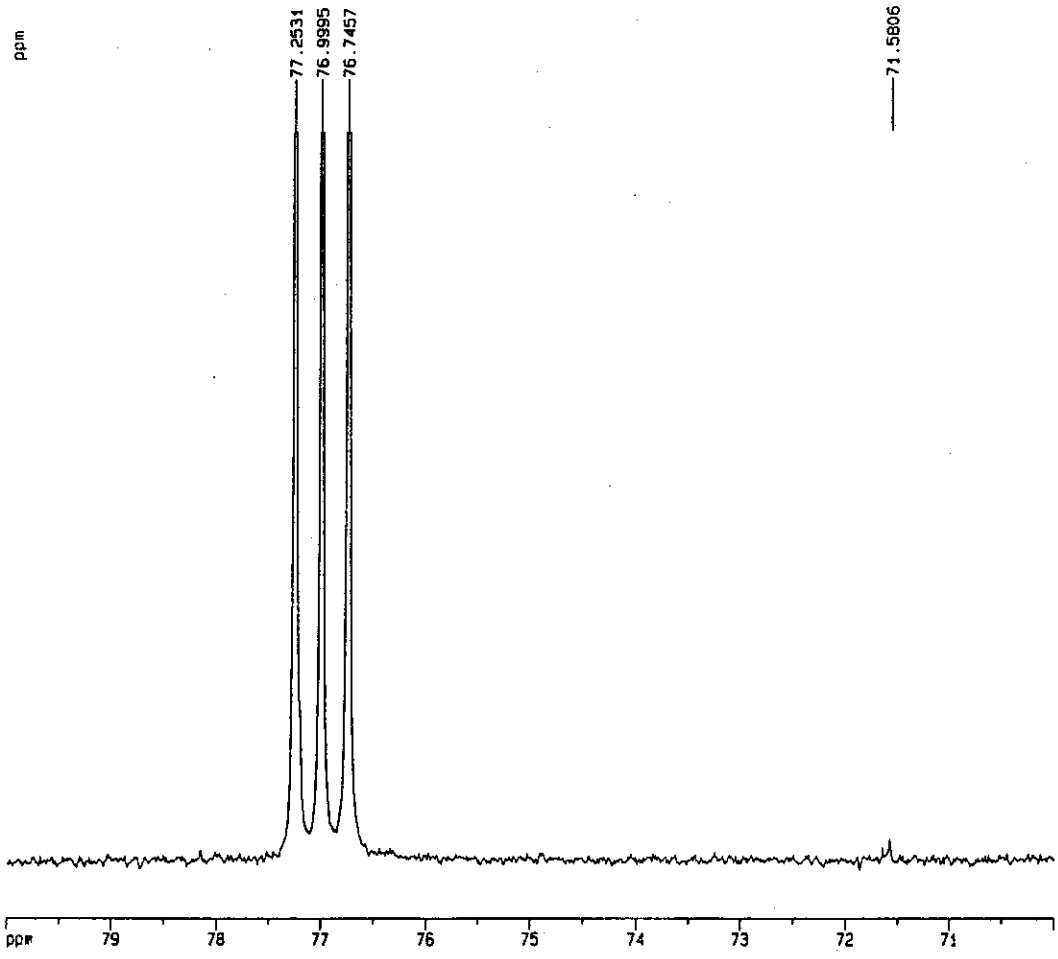
Lampiran 9: Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 170 – 140 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



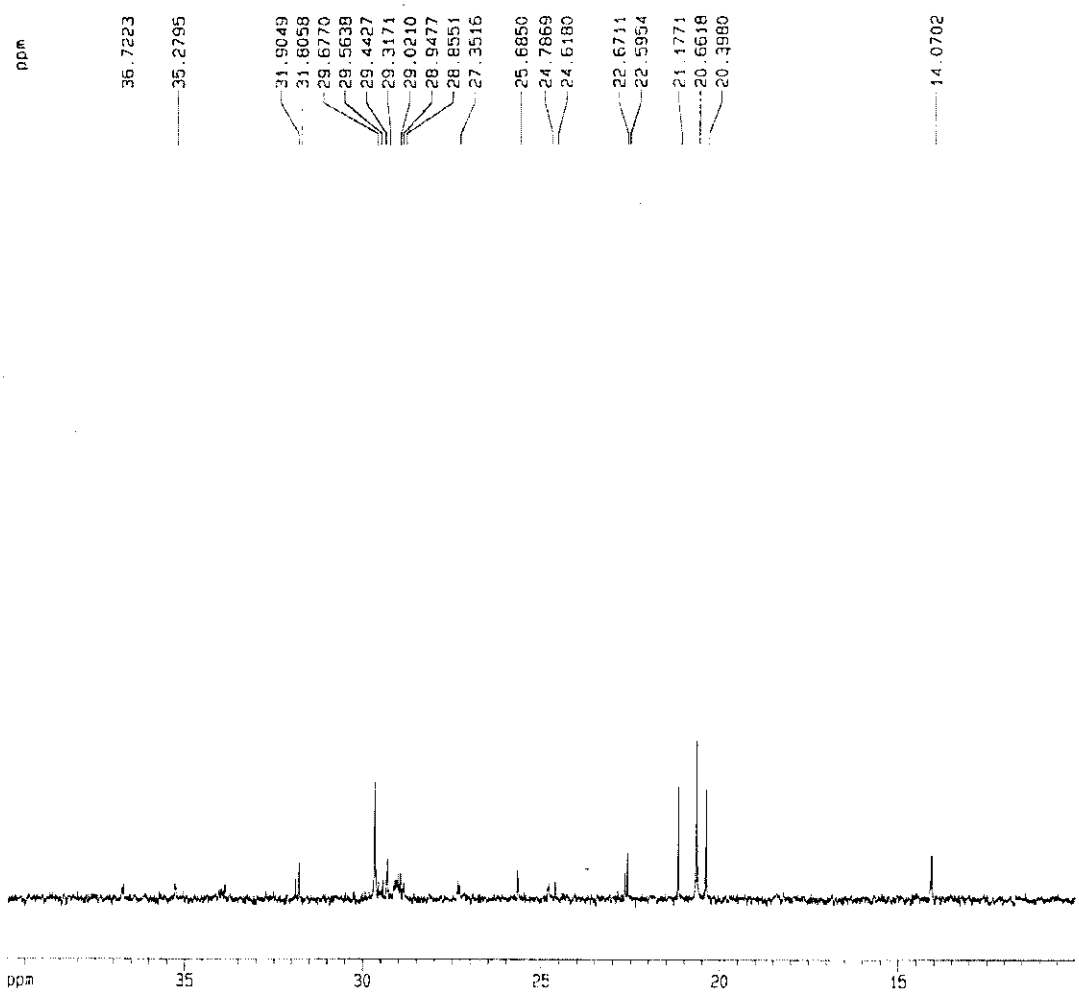
Lampiran 10: Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 130 – 100 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



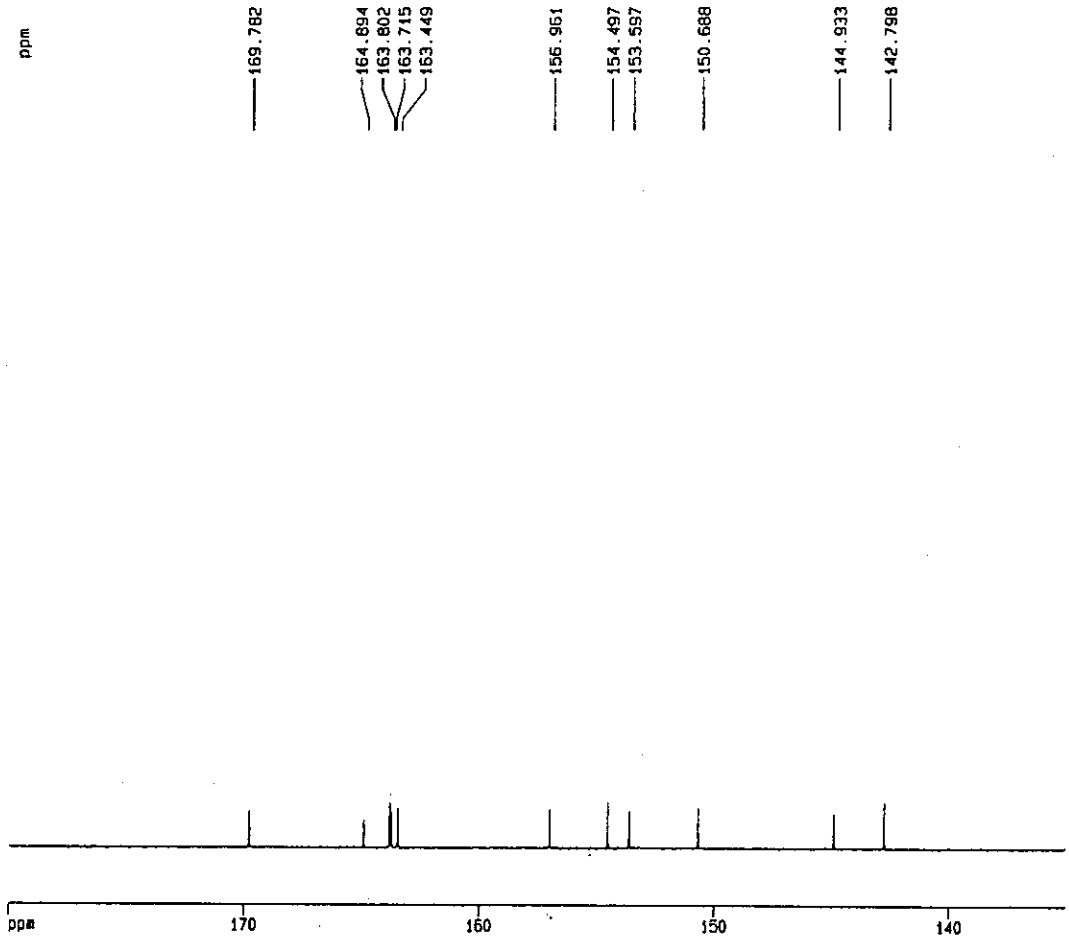
Lampiran 11: Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 80 – 70 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



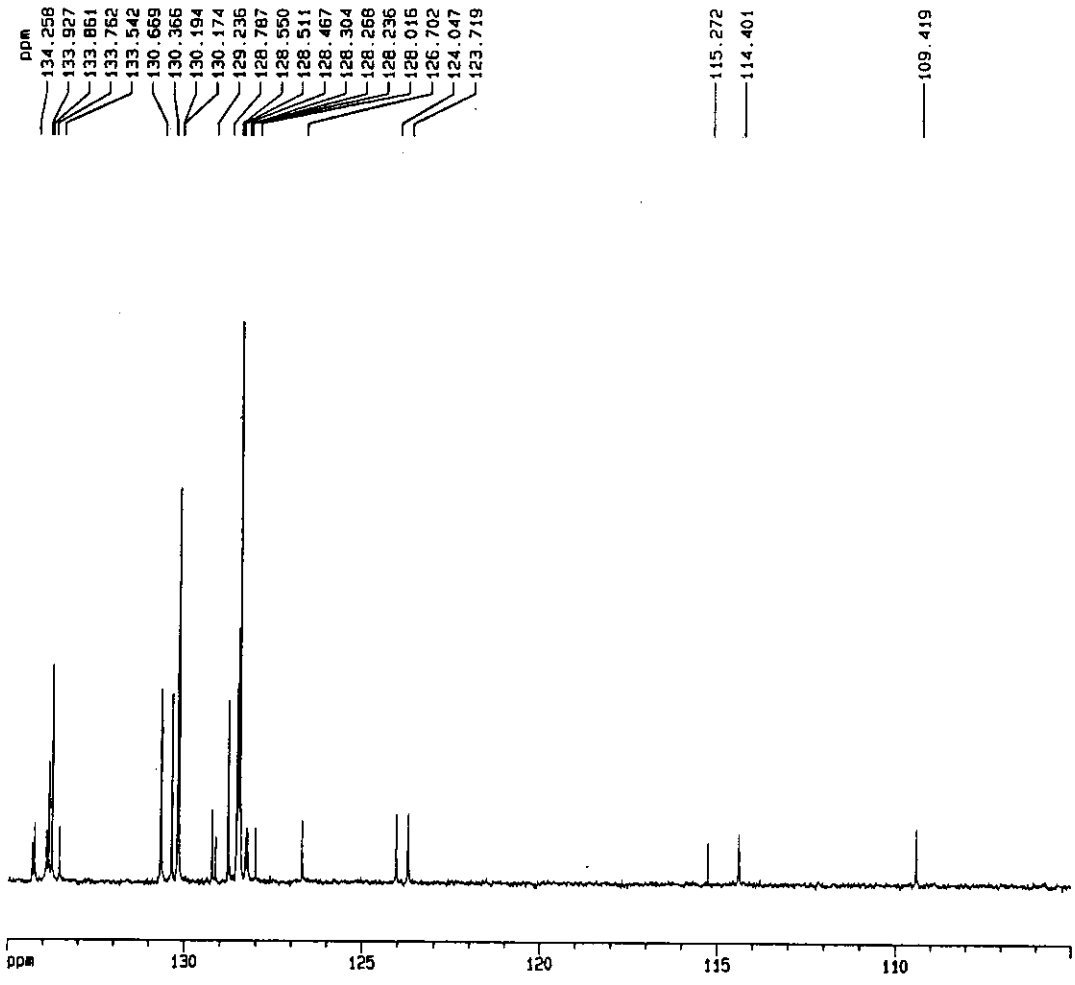
Lampiran 12: Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KA pada Geseran Kimia 40 – 10 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$



Lampiran 13: Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KB pada Geseran Kimia 180 – 140 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$

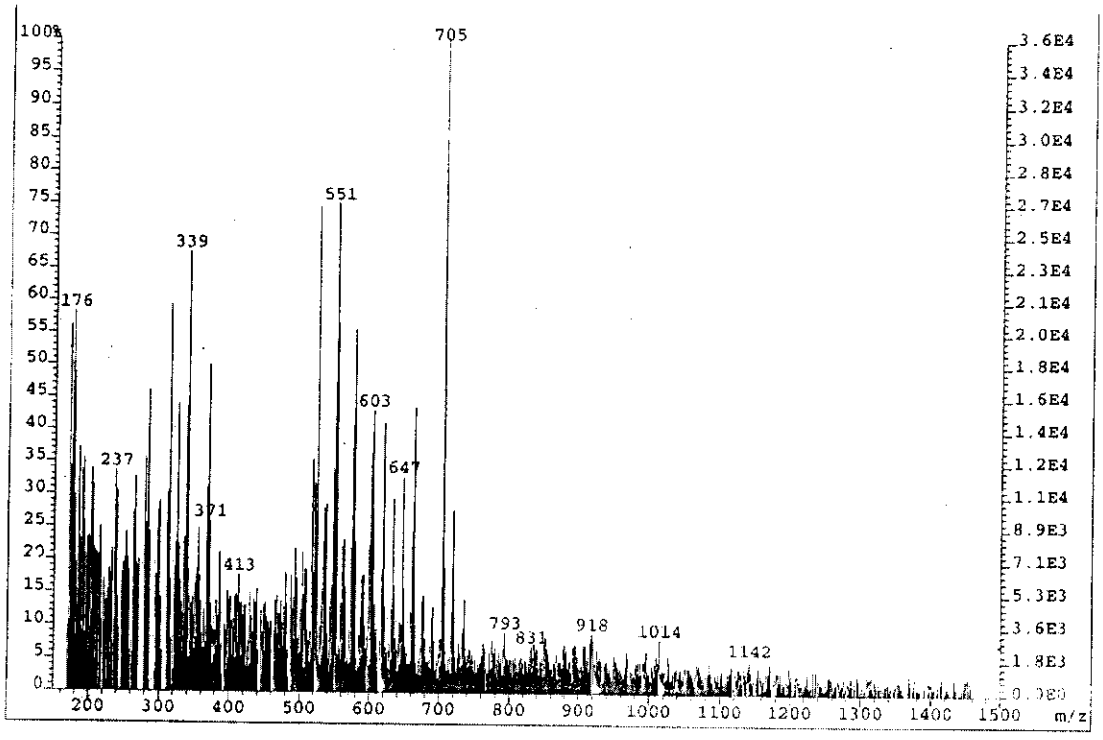


Lampiran 14: Spektrum RMI-^{13}C Senyawa KB pada Geseran Kimia 130 – 110 ppm dalam Pelarut $CDCl_3$

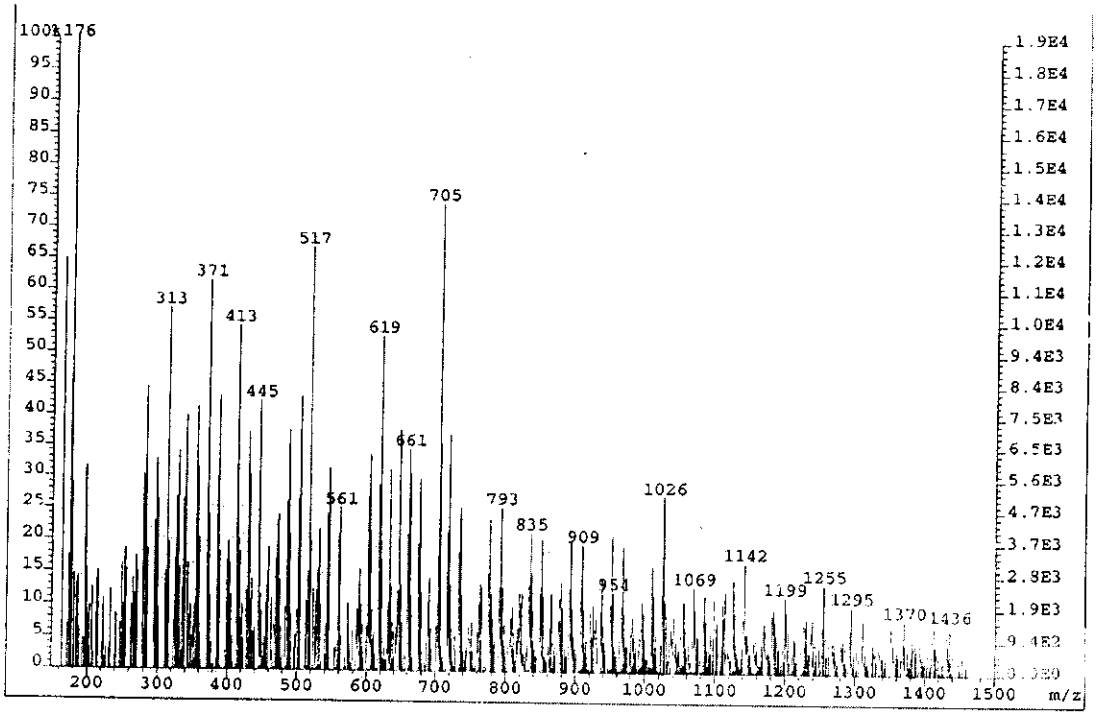


Lampiran 15: Spektrum Massa Senyawa KA (a) dan KB (b)

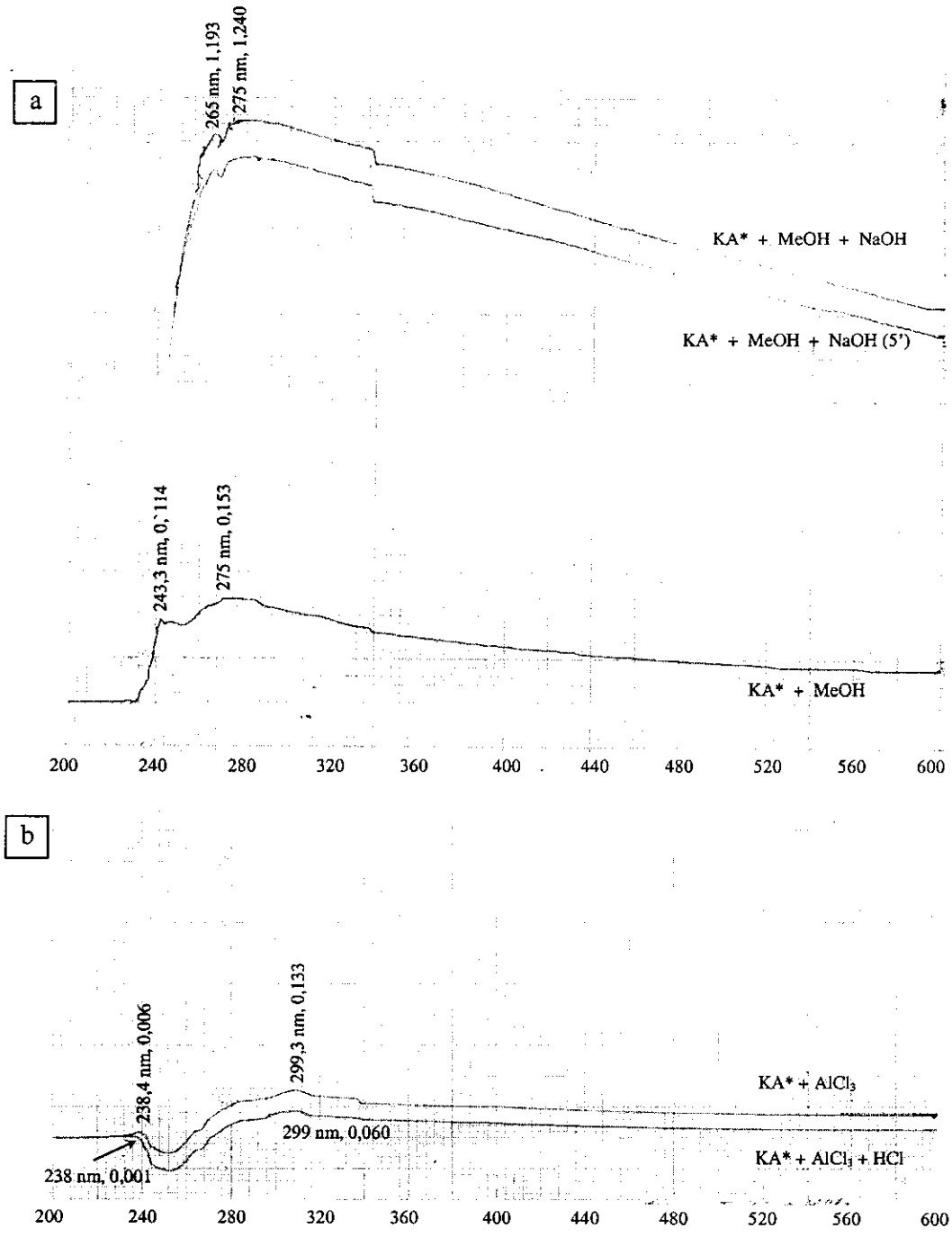
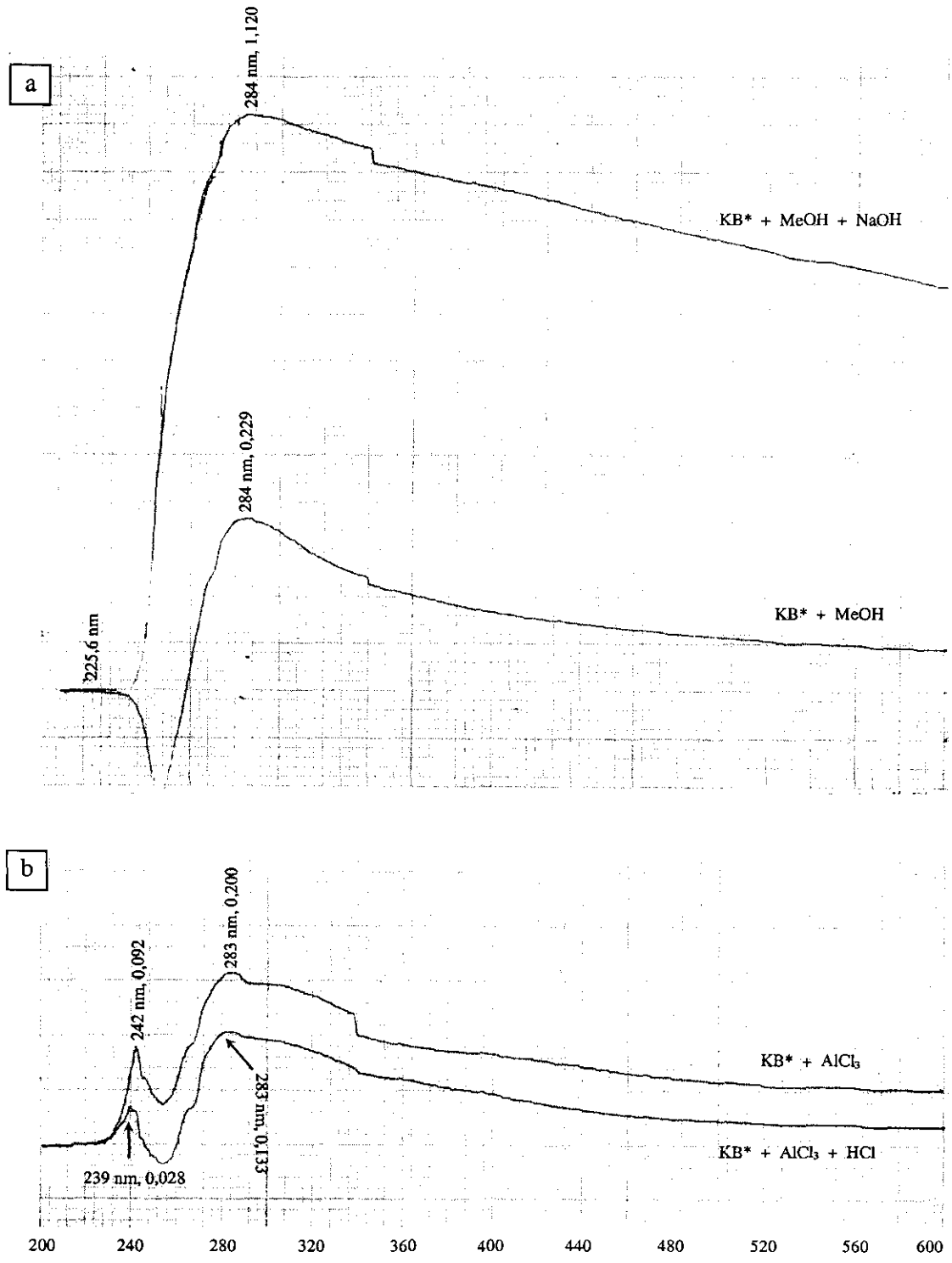
a



b



Lampiran 16: Spektrum UV-Vis Senyawa KA* + MeOH; KA* + MeOH + NaOH (a) dan KA* + $AlCl_3$; KA* + $AlCl_3$ + HCl (b)



Lampiran 17: Spektrum UV-Vis Senyawa KB* + MeOH; KB* + MeOH + NaOH (a) dan KB* + $AlCl_3$; KB* + $AlCl_3$ + HCl (b)